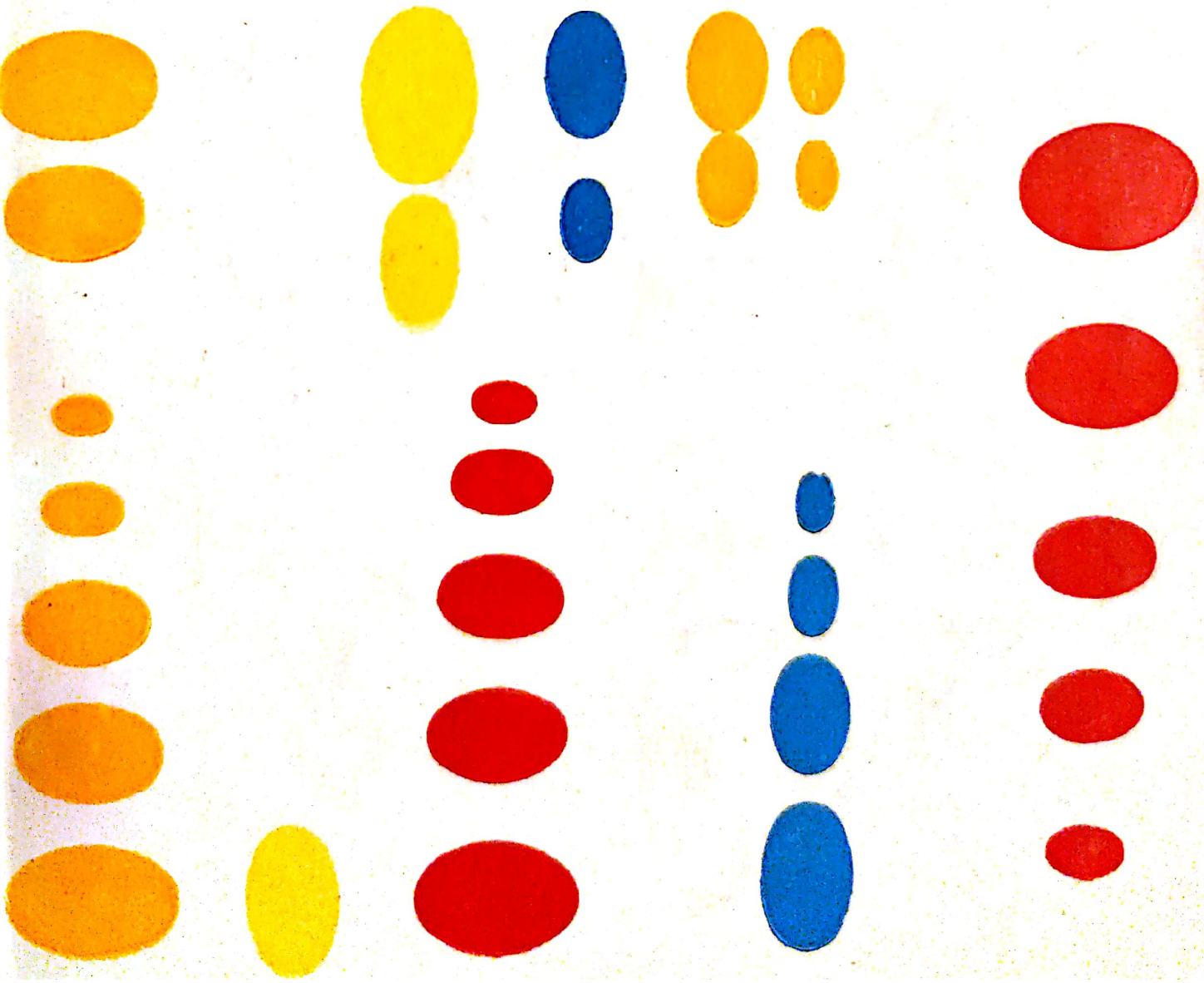
Viorica Pelloni-Tamaş ● Francisca Iohan

cromatografia în strat subţire



Viorica Pelloni Tamaş * Francisca Johan

Cromatografia în strat subţire

Editura tehnică

Bucureşti – 1971

Scanned with OKEN Scanner

Cromatografia în strat subțire este una din noile metode de analiză, care, alături de celelalte metode cromatografice și fizico-chimice în general, contribuie la studiul și identificarea substanțelor chimice naturale și de sinteză.

Cartea cuprinde trei părți distincte: În prima parte sînt prezentate teoria metodei, caracteristicile și proprietățile adsorbanților și developanților și criteriile de alegere a fazelor pentru un anumit tip de separare. Partea a doua a lucrării este consacrată aparaturii utilizate în cromatografia în strat subțire și operațiilor necesare pentru efectuarea analizei calitative și cantitative a unui amestec, iar în partea a treia se dau reactivii utilizați, și sub formă de tabele fazele și condițiile de lucru utilizate la separarea diverselor clase de substanțe.

Cartea se adresează chimiștilor, inginerilor chimiști, farmaciștilor, biologilor, tehnicienilor etc. care lucrează în laboratoare, la separarea și identificarea compușilor chimici; ea poate servi și studenților de la facultățile cu profil chimic.

Redactor: ing. **Emilia Murgu**
Tehnoredactor: **Maria Ionescu**
Grafician: **Mihai Grosu**

Scanned with OKEN Scanner

Cuvînt înainte

Rezultatele spectaculoase obținute în domeniul chimiei în ultimele decenii, atît în cadrul cercetării cît și al multiplelor și variatelor aplicații ale acesteia, se datoresc într-o măsură considerabilă folosirii tehnicilor experimentale și bagajului teoretic pe care fizica le-a pus la dispoziție.

În această direcție, aplicarea metodelor fizice în analiza chimică, proces început încă de la constituirea acesteia ca disciplină științifică, a condus la elaborarea unor valoroase tehnici de laborator, cu mare potențialitate, printre care se înscrie și metoda cromatografică, cu diferitele sale variante.

Cartea autoarelor Viorica Pelloni-Tamaș și Francisca Johan, referitoare la cromatografia în strat subțire, se prezintă ca lucrare unitară, întocmită după un plan bine chibzuit și cu o dezvoltare proporționată între partea teoretică, cea practică și diversele aplicații considerate. Constituie un merit deosebit al lucrării folosirea largă a datelor privind structura moleculară a substanțelor și forțele intermoleculare. Partea experimentală este tratată pe larg, cu detalii semnificative, atestînd buna cunoaștere a domeniului, iar aplicațiile prezentate sînt selecționate în mod judicios, reflectînd aria vastă de aplicare a acestei metode.

Scanned with OKEN Scanner

Lucrarea „Cromatografia în strat subţire" va constitui un ajutor preţios pentru cei care lucrează în laboratoarele diferitelor ramuri ale chimiei şi biochimiei. De asemenea, cartea este deosebit de utilă pentru iniţierea studenţilor facultăţilor cu profil chimic şi elevilor din şcolile tehnice de chimie.

Apariţia acestei cărţi completează în mod fericit o lipsă a literaturii de specialitate în limba română.

Prof. dr. doc. V. EM. SAHINI

Scanned with OKEN Scanner

Cuprins

Cuvînt înainte 3

Partea întîi. **Teoria cromatografiei în strat subțire**

de *Viorica Pelloni-Tamaș*

1. Aspecte introductive în cromatografia în strat subțire 9
   1.1. Scurt istoric 9
   1.2. Tehnica generală a cromatografiei în strat subțire 11
   1.3. Avantajele cromatografiei în strat subțire și limitele de utilizare a metodei 13
   1.4. Terminologia utilizată în cromatografia în strat subțire 14

Bibliografie 18

2. Mecanismul de separare a substanțelor prin cromatografie în strat subțire 20
   2.1. Descrierea mecanismului de separare a substanțelor 20
   2.2. Definirea și determinarea valorii R_f a substanțelor separate . . . 28
      2.2.1. Reproductibilitatea valorii R_f 30

Bibliografie 33

3. Adsorbanți folosiți în cromatografia în strat subțire 34
   3.1. Prezentare generală 34
   3.2. Structura chimică și unele proprietăți ale principalilor adsorbanți folosiți în C.S.S. 36
      3.2.1. Silicagelul 36
      3.2.2. Oxidul de aluminiu 38
      3.2.3. Kieselgurul 43
      3.2.4. Hidroxidul de magneziu 45
      3.2.5. Silicatul de magneziu 46
      3.2.6. Pulberea de celuloză 47
      3.2.7. Poliamide 51
      3.2.8. Sefadexul 52
      3.2.9. Rășini schimbătoare de ioni 53

Scanned with OKEN Scanner

3.2.10. Plăci cromatografice gata preparate 54
3.3. Alegerea adsorbanților 54
Bibliografie 55
4. Developanți (dizolvanți și amestecuri de dizolvanți) folosiți în cromatografia în strat subțire 57
4.1. Prezentare generală 57
4.2. Clasificarea dizolvanților în serii eluotrope 58
4.2.1. Semnificația termenului polar în cromatografia în strat subțire 63
4.3. Alegerea developanților (dizolvanți și amestecuri de dizolvanți) pentru separarea substanțelor 65
Bibliografie 69
5. Aspecte privind relația dintre structura chimică a substanțelor și comportarea lor cromatografică 70
5.1. Prezentare generală 70
5.1.1. Legături de hidrogen 72
5.1.2. Adsorbția acizilor și a bazelor prin ionizare 76
5.1.3. Interacțiuni de tip dipolar și multipolar 76
5.1.4. Interacțiuni prin formare de complecși donor-acceptor . . 81
5.1.5. Interacțiuni prin formare de complecși π 85
5.1.6. Interacțiuni datorate forțelor de dispersie 86
Bibliografie 86

Partea a doua. **Practica cromatografiei în strat subțire**

de *Viorica Pelloni-Tamaș*

6. Aparatura folosită în cromatografia în strat subțire 89
6.1. Aparatura Desaga 90
6.2. Aparatura Camag 95
6.3. Aparatură furnizată de alte firme și dispozitive prezentate de diferiți autori 102
Bibliografie 106
7. Prepararea plăcilor cromatografice 108
7.1. Pregătirea plăcilor de sticlă 108
7.2. Prepararea pastei de adsorbanți 108
7.2.1. Prepararea pastei de silicagel 108
7.2.2. Prepararea pastei de oxid de aluminiu 112
7.2.3. Prepararea pastei de kieselgur 113
7.2.4. Prepararea pastei din pulbere de celuloză 113
7.2.5. Prepararea pastei de poliamide 116
7.3. Aplicarea pastei de adsorbanți pe plăcile de sticlă 117
7.4. Uscarea și activarea plăcilor cromatografice 117
Bibliografie 119
8. Separarea cromatografică a substanțelor. Identificarea și dozarea lor . 122
8.1. Separarea cromatografică 122
8.1.1. Aplicarea substanțelor pe placa cromatografică 122
8.1.2. Developarea 125
8.1.3. Uscarea plăcilor cromatografice după developare 128

Scanned with OKEN Scanner

8.2. Identificarea. Punerea în evidență a substanțelor separate . . . 128
8.3. Determinarea cantitativă. (Dozarea) 131
8.4. Păstrarea cromatogramelor sau a imaginii lor în scop documentar 139
8.4.1. Păstrarea cromatogramelor 139
8.4.2. Păstrarea imaginii cromatogramelor 140
Bibliografie 141
9. Tehnici de developare utilizate în cromatografia în strat subțire . . 144
9.1. Tehnica ascendentă 144
9.2. Tehnica descendentă, simplă și continuă 144
9.3. Tehnica orizontală 146
9.4. Tehnica radială 147
9.5. Tehnica centrifugală 147
9.6. Tehnica bidimensională 148
9.7. Tehnica developării multiple 149
9.8. Tehnica developării în trepte 149
9.9. Tehnica developării în formă de pană 150
9.10. Tehnica developării cu gradiant 151
9.11. Tehnica developării polizonale 153
9.12. Tehnica developării S.R.S. (separare-reacție-separare) 154
Bibliografie 154

Partea a treia. **Aplicațiile cromatografiei în strat subțire la separarea substanțelor organice**
de *Francisca Johan*
10. Reactivi generali de identificare 157
10.1. Reactivi care acționează prin distrugerea (carbonizare) substanței organice 158
10.2. Reactivi cu iod pentru compușii organici care absorb iodul sau care reacționează chimic cu el (substanțe reducătoare) 158
10.3. Reactivi pentru compuși reducători 159
10.4. Reactivi de fluorescență și luminiscență 160
10.5. Indicatori de *p*H 161
10.6. Alți reactivi semigenerali 161
Bibliografie 162
11. Separarea și identificarea diferitelor clase de substanțe organice . . 166
11.1. Hidrocarburi alifatice, aromatice, policiclice, terpene și derivați 172
Bibliografie 173
11.2. Alcooli, glicoli, polioli și derivați 177
Bibliografie 178
11.3. Aldehide, cetone, derivați 183
Bibliografie 184
11.4. Fenoli, polifenoli, fenoli substituiți, derivați 194
Bibliografie 196
11.5. Mono-, oligo-, polizaharide, dextrine, aminozaharuri 202
Bibliografie 203
11.6. Acizi alifatici saturați și nesaturați, mono- și dicarboxilici, acizi aromatici mono- și policarboxilici și alți acizi organici . . . 203

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie 214
11.7. Esteri, eteri, peroxizi, hidroperoxizi, chinone, anhidride, oxime, lactone, lactame 215
Bibliografie 220
11.8. Amine, amide, nitrozo, nitroderivați, săruri cuaternare de amoniu, heterociclici cu azot 222
Bibliografie 223
11.9. Derivați cu sulf, fosfor, siliciu, halogeni, compuși nesaturați, organometalici 236
Bibliografie 242
11.10. Lipide 244
Bibliografie 250
11.11. Polimeri, rășini, adezivi 252
Bibliografie 256
11.12. Coloranți 258
Bibliografie 263
11.13. Agenți activi de suprafață 264
Bibliografie 267
11.14. Pulberi explozive, stabilizatori și plastifianți din pulberi, substanțe iritante 269
Bibliografie 273
11.15. Produse fitofarmaceutice-pesticide (insecticide-ierbicide, fungicide, acaricide, raticide), organofosforice clorurate, carbamate, fenolice nitroaminoderivați, derivați ai ureii, piretrine și diferite alte tipuri de pesticide 274
Bibliografie 280
11.16. Produse auxiliare utilizate în industria materialelor plastice, cauciuc, textile, lacuri și vopsele, alimentară, pulberi explozive . 281
Bibliografie 286

Scanned with OKEN Scanner

Partea întîi

Teoria cromatografiei în strat subțire

1. Aspecte introductive în cromatografia în strat subțire

1.1. Scurt istoric

Deşi intrată mai tîrziu în practica curentă de laborator decît cromatografia pe coloană şi cromatografia pe hîrtie, cromatografia în strat subţire s-a impus într-un timp foarte scurt ca o metodă de analiză fizico-chimică de mare utilitate, atît în cercetare cît şi în producţie.

Primele experimentări datează din anul 1938 şi aparţin lui Izmailov şi Schraiber [1] care au încercat să testeze adsorbanţi şi dizolvanţi pentru cromatografia pe coloană, utilizînd oxid de aluminiu fără liant, aşezat în strat subţire pe plăci de sticlă. Mai tîrziu, prin anul 1947, cercetătorul Williams [2] dezvoltă ideea de a aşeza adsorbantul între două plăci de sticlă, iar dizolvantul îl introduce printr-un orificiu aflat în placa superioară. Numeroşi alţi cercetători au folosit — în forme mai mult sau mai puţin apropiate de tehnica actuală a cromatografiei în strat subţire — substanţe adsorbante, direct sau impregnate în suporturi de hîrtie, pentru separări cromatografice [3—6].

În anul 1949, Meinhard şi Hall [7], utilizează pentru prima oară amidonul drept liant pentru fixarea oxidului de aluminiu pe plăci, simplificînd într-o anumită măsură condiţiile de lucru.

Lucrările lui Kirchner, Miller şi Keller din 1950—1954 [8—15] cu privire la separarea derivaţilor terpenici — constituie un pas

Scanned with OKEN Scanner

înainte în dezvoltarea acestei tehnici. Ei preconizează folosirea metodei sub denumirea de „chromatostrip" și propun numeroase îmbunătățiri care stau la baza formei actuale a metodei cromatografiei în strat subțire. Astfel, propun utilizarea gipsului ca liant anorganic, superior amidonului, folosirea silicagelului ca adsorbant, limitîndu-i dimensiunea particulelor la maximum 150 μm, utilizarea unor vase închise pentru efectuarea separărilor la fel ca în cazul cromatografiei pe hîrtie. De asemenea, concomitent cu Reitsema [16], ei propun folosirea plăcilor late în locul plăcilor suport înguste (astfel se pot efectua în paralel mai multe separări, ca și în cazul cromatografiei pe hîrtie).

Între anii 1954—1961, metoda a fost folosită cu succes crescînd de către numeroși cercetători. Se remarcă lucrările lui Stahl și colab. [17—25], Demole și colab. [26—30], Furukawa [31—34], Stanley și colab. [35—39], Kirchner și colab. [40], Randerath [41—42], Snyder [43—44] și alții [45—60]. Cercetările au evoluat în sensul măririi eficienței de separare, a lărgirii domeniului de aplicare și a explicării teoretice a fenomenelor ce au loc. S-au experimentat astfel o gamă largă de adsorbanți și lianți, s-au studiat condițiile de activare a adsorbanților și mărimea particulelor, grosimea optimă a straturilor, concentrația optimă a substanțelor de separat, reacții de identificare, aparatură etc., ceea ce a creat posibilitatea de a se standardiza condițiile de lucru.

Se poate considera că, în acest moment, cromatografia în strat subțire a ajuns la o fază suficient de perfecționată pentru a putea intra în activitatea curentă de laborator. În ce privește denumirea, trebuie precizat că a fost unanim acceptat numele de „cromatografie în strat subțire" sub care a intrat în șirul metodelor de analiză fizico-chimică.

Un merit incontestabil în extinderea metodei cromatografiei în strat subțire la multe grupe de substanțe organice, precum și în sistematizarea cunoștințelor din acest domeniu, îi revine lui Stahl și colaboratorilor săi care au publicat în anul 1962 prima carte despre cromatografia în strat subțire [61]. Tot în acest an, apare cartea lui Randerath [62].

După apariția acestor lucrări, extinderea cromatografiei în strat subțire a fost extrem de rapidă. Astfel, în anul 1963, peste 150 de publicații [63] tratau despre această metodă. Tot în anul 1963, apar cărțile lui Bobbitt [64] și Truter [65] dedicate cromatografiei în strat subțire.

În anul 1965, apare a doua ediție a cărții lui Randerath [66], iar în anul 1966 apare cartea lui Pataki despre cromatografia în strat

Scanned with OKEN Scanner

subțire a aminoacizilor și peptidelor [67]. În anul 1967, Stahl publică a doua ediție a cărții „Dünnschicht-Chromatographie" [68] și tot în acest an apare în enciclopedia de tehnică chimică organică, editată de Weissberger, lucrarea lui Kirchner „Thin-Layer Chromatography" [69].

O prezentare detaliată a istoricului cromatografiei în strat subțire este făcută în articolul de sinteză semnat de Pelick și colab. [70].

La noi în țară, cromatografia în strat subțire a fost aplicată chiar de la începuturile ei, prin anii 1960—1961, de către un colectiv de cercetători de la ICECHIM, apoi, la scurt timp, de către alt colectiv de cercetători de la I.C.C.F. Ulterior, metoda a fost adoptată în numeroase institute de învățămînt superior (Fac. de Chimie din București, Fac. de Chimie din Cluj etc.) și de către alte institute de cercetări, căpătînd în scurt timp, o largă răspîndire.

1.2. Tehnica generală a cromatografiei în strat subțire

Tehnica uzuală, așa cum a fost pusă la punct de către Stahl [61], constă în obținerea unui strat de adsorbant (silicagel, oxid de aluminiu etc.) de aproximativ 250 μm grosime, pe o placă de sticlă de dimensiuni variabile, de exemplu 10×20 cm, sau de 20×20 cm. La circa 1,5 cm de la unul din capetele plăcii, se aplică o cantitate foarte mică de soluție conținînd amestecul de substanțe care urmează să fie separat. Se introduce apoi placa cromatografică într-un vas cu posibilități de închidere etanșă, în care atmosfera a fost saturată în prealabil cu vaporii dizolvantului sau ai amestecului de dizolvanți folosiți pentru separare și se imersează cu capătul unde s-au aplicat probele în amestecul de dizolvanți aflat pe fundul vasului. Imersarea se face în așa fel încît linia de start, respectiv punctul de aplicare al substanțelor, să fie cu circa 1 cm deasupra nivelului lichidului.

Are loc un proces de separare, în care amestecul de dizolvanți, constituind faza mobilă (developantul), se deplasează printre particulele de adsorbant ce reprezintă faza staționară. Pe măsură ce progresează frontul developantului, substanțele din amestec se separă în zone distincte situate de-a lungul stratului de adsorbant. Cînd frontul amestecului de dizolvanți a atins extremitatea plăcii cromatografice, aceasta se scoate, se usucă și apoi se identifică substanțele separate.

Se obțin cromatograme de forma celor prezentate în figura 1.

Scanned with OKEN Scanner

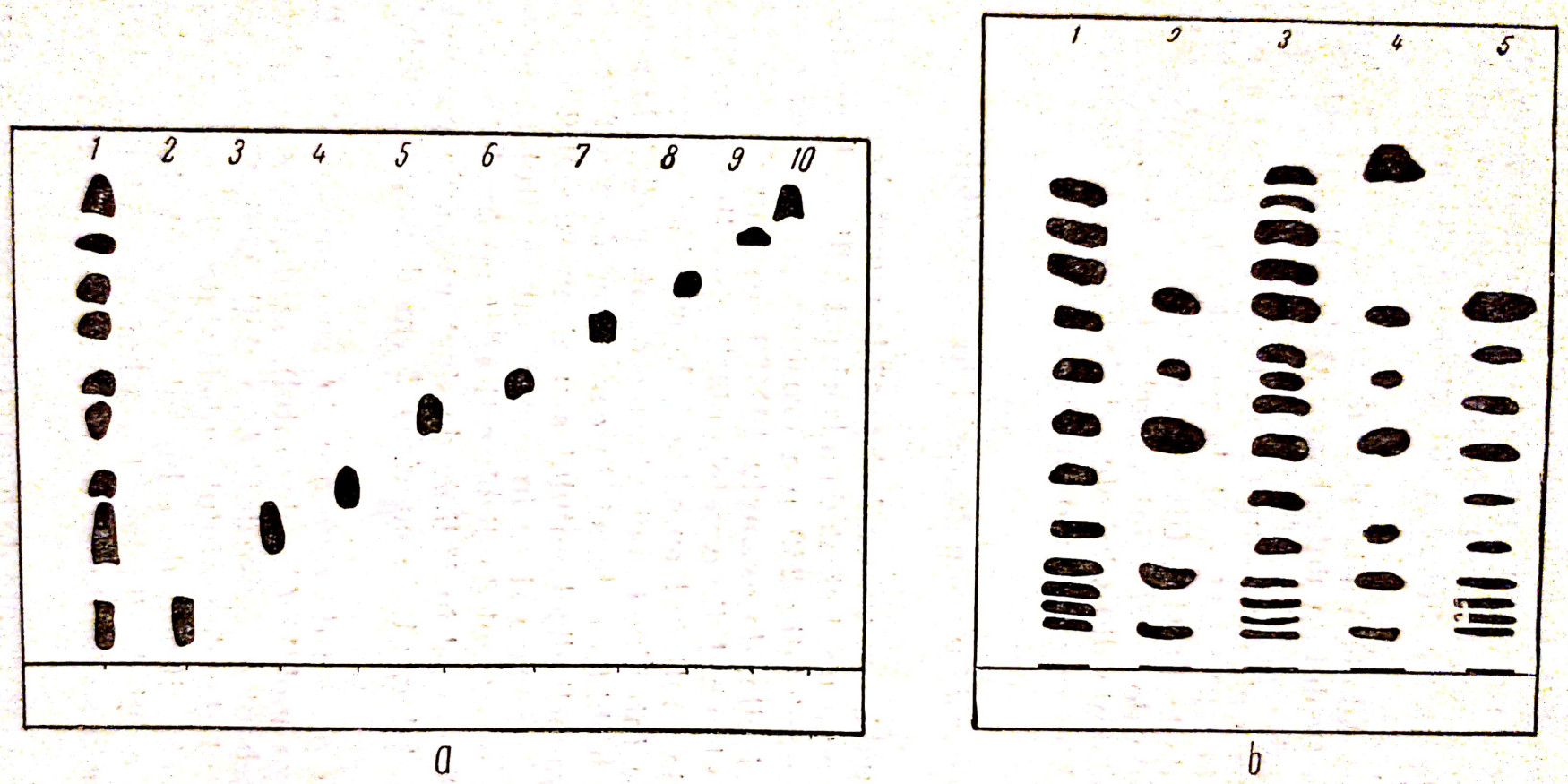


Fig. 1. Cromatograme:

a — aplicarea probei sub formă rotundă: *1* — probă; *2—10* — etaloane corespunzătoare substanțelor din probă; *b* — aplicarea probei sub formă liniară: *1—5* — probe diferite.

1.3. Avantajele cromatografiei în strat subțire și limitele de utilizare a metodei

Asemănîndu-se ca principiu și ca tehnică atît cu cromatografia pe coloană cît și cu cromatografia pe hîrtie, cromatografia în strat subțire combină o serie de avantaje ale acestor tehnici. Printre avantajele cele mai importante ale metodei se pot enumera următoarele:

— *Eficiența mare de separare a substanțelor.* Aceasta se datorește în mare măsură structurii adsorbanților folosiți care, datorită suprafeței specifice foarte mari, permit adsorbția diferențiată chiar la concentrații mici a moleculelor de separat (v. Cap. 3). De exemplu, s-a stabilit prin calcul că pentru separarea a două substanțe anumite prin repartiție lichid-lichid sînt necesare un număr de circa 300 de extracții succesive [61], pe cînd prin cromatografie în strat subțire se poate realiza aceasta pe un strat de numai 15—20 cm lungime în cel mult 50—60 min.

De asemenea, este important de menționat faptul că metoda cromatografiei în strat subțire permite separări de ordinul sutimilor de micrograme (0,01 μg), ceea ce alte metode de pînă acum nu au putut realiza.

— *Universalitatea metodei.* Aceasta este dată de posibilitatea de a utiliza, după nevoie, atît separările bazate pe adsorbție, cît și cele bazate pe repartiția lichid-lichid. De aici rezultă posibilitatea aplicării metodei atît la separarea substanțelor hidrosolubile cît și a celor liposolubile. Legat de universalitatea metodei, se poate preciza că sînt posibile separări cromatografice în strat subțire, utilizînd și suporturi cu proprietăți schimbătoare de ioni, fapt care lărgește posibilitățile de aplicare ale metodei [66].

Privitor la substanțele chimice ce pot fi separate prin cromatografie în strat subțire, se poate spune că exceptînd hidrocarburile alifatice saturate, hidrocarburile ciclice sau aciclice nesubstituite, gazele și lichidele volatile (care se pot separa mai ușor prin cromatografie de gaze), celelalte substanțe pot fi separate prin diferite tehnici ale cromatografiei în strat subțire.

— *Simplitatea metodei și prin aceasta accesibilitatea ei* (v. Cap. 6. Aparatura utilizată în cromatografia în strat subțire).

— *Rapiditatea metodei.* Este o trăsătură deosebit de importantă. Chiar în cazul celor mai complicate amestecuri de substanțe se poate realiza o separare de mare finețe în numai 15—60 min, în timp ce prin metodele clasice o asemenea separare ar dura zile în șir. Durata scurtă a separărilor cromatografice este legată de structura și particularitățile adsorbanților folosiți. În urma studiilor comparative cu

Scanned with OKEN Scanner

privire la viteza de migrare pe hîrtie şi pe straturi subţiri de silicagel [61], s-a constatat că pentru straturi de 250 μm grosime viteza de migrare corespunde aceleia din hîrtia cromatografică Whatman Nr. 1. Însă, spre deosebire de cromatografia în strat subţire, în cazul cromatografiei pe hîrtie datorită structurii hîrtiei, e nevoie să se utilizeze suprafeţe mai mari pentru aceeaşi separare. Astfel, o distanţă de 10—15 cm, parcursă de developant în cromatografia în strat subţire este de obicei suficientă, în timp ce în cromatografia pe hîrtie e nevoie ca developantul să parcurgă o distanţă cel puţin de două sau trei ori mai mare. Rezultă că pentru realizarea aceleiaşi separări, în cazul hîrtiei e nevoie de timpi mari comparativ cu cromatografia în strat subţire.

Durata scurtă de cromatografiere prezintă şi alte avantaje. De exemplu, permite separarea cromatografică în bune condiţii a substanţelor instabile (vitamina A, caroteni etc.). De asemenea, fapt deosebit de important, reduce mult fenomenele de difuziune.

— *Reproductibilitatea rezultatelor în condiţii de lucru standard* (v. Cap. 2 Reproductibilitatea valorilor R_f).

— *Posibilitatea analizei simultane a mai multor probe* (la fel ca în cromatografia pe hîrtie şi spre deosebire de cromatografia pe coloană unde această simultaneitate nu este posibilă).

— *Posibilitatea utilizării metodei în scopuri preparative.* Crescînd corespunzător grosimea stratului se pot izola cantităţi de ordinul zecimilor de miligram sau chiar al miligramelor.

— *Posibilitatea utilizării pentru identificare a reactivilor corosivi sau developanţilor* acizi (aceştia, în cazul cromatografiei pe hîrtie, distrug hîrtia).

— *Posibilitatea de a efectua direct pe placa cromatografică oxidări, reduceri, deshidratări etc.*

— *Posibilitatea utilizării tehnicii de cromatografiere bidimensională* etc., (la fel ca în cazul cromatografiei pe hîrtie).

1.4. Terminologia utilizată în cromatografia în strat subţire

Alegerea terminologiei s-a făcut pe baza comparării tuturor denumirilor utilizate în cromatografia în strat subţire, în limbile engleză, franceză, germană şi rusă.

Criteriile principale de alegere au fost: expresii simple, cuprinzătoare, justificate logic şi lingvistic.

S-a luat ca bază cea mai nouă propunere de nomenclatură făcută de Stahl în 1968 [71], precum şi lucrarea lui Kirchner din 1967 [69] şi glosarul de termeni propus de Lewin în 1963 [72].

Scanned with OKEN Scanner

Prezentarea termenilor se face în ordinea alfabetică.

Activare — Eliminarea de pe suprafaţa adsorbantului a apei legate fizic, prin încălzire, în scopul eliberării centrelor active ale suprafeţei.

Adsorbant — Substanţă chimică de natură anorganică sau organică care constituie faza solidă ce se întinde în strat subţire pe plăci de sticlă şi care trebuie să îndeplinească anumite condiţii: suprafaţă specifică foarte mare (dată de o granulaţie fină şi număr mare de pori) şi puritate avansată.

Aplicarea substanţelor pe linia de start — Aducerea probei sau a amestecului de separat pe linia de start a plăcii cromatografice.

Cromatografie — Metodă fizico-chimică de separare a substanţelor dintr-un amestec, pe baza capacităţii deosebite de distribuţie între o fază staţionară şi una mobilă.

Cromatografiere — Operaţia de separare a substanţelor în condiţiile descrise (v. Cap. 1.2.).

Cromatogramă — Placa de sticlă, împreună cu stratul de adsorbant şi substanţele separate după developare, înainte şi după identificare.

Cromatografie de adsorbţie — Cromatografia în care drept fază staţionară se utilizează un adsorbant cu capacitate mare de adsorbţie.

Cromatografie de repartiţie — Cromatografia în care drept fază staţionară se utilizează o fază lichidă depusă pe un suport solid adsorbant (v. Cap. 2).

C.S.S. — Cromatografie în strat subţire.

Cuvă de developare sau vas cromatografic — Vas în care se introduce placa cromatografică pentru developare (v. Cap. 6).

Scanned with OKEN Scanner

Developant sau amestec de dizolvanţi — Faza mobilă formată din unul sau mai mulţi dizolvanţi amestecaţi în proporţii anumite.

Developare — Procesul de deplasare a fazei mobile printre granulele ce constituie faza staţionară sau suportul fazei staţionare.

Durata developării — Timpul necesar pentru ca faza mobilă să parcurgă o anumită distanţă de la linia de start (măsurată în mm sau cm), considerată suficientă pentru realizarea separării.

Eluare — Extracţia din adsorbant, după developare, a unei anumite zone de substanţă, pentru dozare sau în scopuri preparative.

Fază staţionară — Adsorbanţii, ca atare, sau diferite substanţe lichide îmbibate într-un suport solid adsorbant.

Fază mobilă — Developantul (amestecul de dizolvanţi).

Frontul developantului sau frontul amestecului de dizolvanţi — Linia de demarcaţie a zonei străbătută de developant pe suprafaţa adsorbantului.

hR_f — Valoarea $R_f \times 100$.

Imersare — Introducerea în developant a acelui capăt al plăcii cromatografice la care s-au aplicat probele, introducerea făcîndu-se în aşa fel încît linia de start să fie cu cel puţin 1 cm deasupra nivelului lichidului.

Impregnare — Depunerea fazelor staţionare lichide pe suprafaţa particulelor solide de adsorbant ce constituie suportul.

Liant — Substanţă folosită pentru fixarea adsorbanţilor pe plăcile de sticlă (sulfat de calciu, amidon etc.).

Migrare — Deplasarea substanţelor din amestecul de separat, împreună cu fa-

Scanned with OKEN Scanner

za mobilă, de-a lungul fazei staționare.

Pată sau zonă de substanță — Poziția delimitată a unei substanțe pe suprafața adsorbantului.

Placă — Placă din sticlă de diferite dimensiuni pe care se aplică adsorbanții.

Placă cromatografică — Placa de sticlă împreună cu stratul de adsorbant, înainte și după aplicarea substanțelor de separat.

Plăci industriale — Plăci cromatografice gata preparate cu o anumită fază staționară.

Pulverizare — Operația de răspîndire uniformă, prin pulverizare, a soluțiilor diferiților reactivi folosiți pentru identificarea substanțelor separate (de exemplu, reactivi cromogeni, reactivi care măresc extincția fluorescenței etc.).

Rezoluție — Gradul de separare a două sau mai multe substanțe dintr-un amestec, apreciat după aspectul petelor obținute (v. Cap. 2, fig. 3).

R_f — v. valoarea R_f.

Saturarea cuvei de developare — Procesul de saturare a cuvei de developare cu vaporii developantului folosit pentru o anumită separare (v. Cap. 8.1.2.).

Start sau linie de start — Punctul de aplicare a substanțelor înainte de începerea developării. Toate punctele de aplicare a diferitelor probe se află pe aceeași linie.

Strat — Adsorbantul aplicat pe placa de sticlă sau alt suport, avînd o grosime de 0,1 mm pînă la circa 2 mm.

Valoarea R_f — Valoarea numerică a raportului între distanța parcursă de o zonă de substanță și distanța parcursă

Scanned with OKEN Scanner

de developant. Măsurarea se face în mm sau cm, de la start pînă în centrul petei, respectiv pînă la frontul developantului (v. Cap. 2).

Viteza de migrare — Distanţa parcursă de faza mobilă în unitatea de timp (cm/min).

Bibliografie

1. *Izmailov, N. A., Schraiber, M. S.* Farmatsiya, **3**, 1938, p. 1.
2. *Williams, T. L.* Introduction to Chromatography, Glasgow, Blackie, 1947, p. 3.
3. *Brown, W. G.*, Nature, **143**, 1939, p. 377.
4. *Lapp, G., Erali, K.* Bull. Sci. Pharmacol., **47**, 1940, p. 49.
5. *Crowe, M. O'L.*, Anal. Chem., **13**, 1941, p. 845.
6. *Békésy, N. V.*, Biochem. Z., **312**, 1942, p. 100.
7. *Meinhard, J. E., Hall, N. F.* Anal. Chem., **21**, 1949, p. 185.
8. *Kirchner, J. G., Keller, G. J.* J. Am. Chem. Soc., **72**, 1950, p. 1867.
9. *Kirchner, J. G., Miller, J. M., Keller, G.* J. Anal. Chem., **23**, 1951, p. 420.
10. *Kirchner, J. G., Miller, J. M.* Ind. Eng. Chem., **44**, 1952, p. 318.
11. *Miller, J. M., Kirchner, J. G.* Anal. Chem., **24**, 1952, p. 1840.
12. *Kirchner, J. G., Miller, J. M.* J. Agr. Food Chem., **1**, 1953, p. 512.
13. *Miller, J. M., Kirchner, J. G.* Anal. Chem., **25**, 1953, p. 1107.
14. *Kirchner, J. G., Miller, J. M., Rice, R. G.* J. Agr. Food Chem., **2**, 1954, p. 1031.
15. *Miller, J. M., Kirchner, J. G.*, Anal. Chem., **26**, 1954, p. 2002.
16. *Reitsema, R. H.* Anal. Chem., **26**, 1954, p. 960.
17. *Stahl, E.* Pharmazie, **11**, 1956, p. 633.
18. *Stahl, E.* Chemiker-Ztg., **82**, 1958, p. 323.
19. *Stahl, E.* Parfümerie und Kosmetik, **39**, 1958, p. 564.
20. *Stahl, E.* Arch. Pharmaz., **292**, 1959, p. 411.
21. *Stahl, E.* Pharmaz. Rundsch., **1**, 1959, p. 2.
22. *Stahl, E.* Arch. Pharmaz., **293**, 1960, p. 531.
23. *Stahl, E.* Z. Analyt. Chem., **181**, 1961, p. 303.
24. *Stahl, E.* Angew. Chem., **73**, 1961, p. 646.
25. *Stahl, E., Kaltenbach, U.* J. Chromatog., **5**, 1961, p. 458.
26. *Demole, E.* Compt. Rend., **243**, 1956, p. 1883.
27. *Demole, E.*, J. Chromatog., **1**, 1958, p. 24.
28. *Demole, E., Lederer, E.* Bull. Soc. Chim. France, **1958**, p. 1128.
29. *Demole, E.* Chromatog. Rev., **1**, 1959, p. 1.
30. *Demole, E.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 2.
31. *Furukawa, T.* J. Fac. Educ., Hiroschima Univ., **3**, 1955, p. 53.
32. *Furukawa, T.* Nippon Kagaku Zasshi, **78**, 1956, p. 1185; C.A., **52**, 1957, p. 13364.

Scanned with OKEN Scanner

33. *Furukawa, T.* J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. **A 21**, 1958, p. 285; C. A. **53**, 1959, p. 809.
34. *Furukawa, T.* Nippon Kagaku Zasshi, **78**, 1957, p. 1185; C. A. **52**, 1958, p. 13364.
35. *Stanley, W. L., Wannier, S. H.* J. Assoc. Office Agr. Chemists, **40**, 1957, p. 582.
36. *Stanley, W. L., Wannier, S. H.* J. Am. Chem. Soc., **79**, 1957, p. 3488.
37. *Stanley, W. L., Wannier, S. H., Gentili, B.* J. Assoc. Office Agr. Chemists, **40**, 1957, p. 282.
38. *Stanley, W. L., Lindwall, R. C., Wannier, S. H.* J. Agr. Food Chem., **6**, 1958, p. 858.
39. *Wannier, S. H., Stanley, W. L.* J. Assoc. Office Agr. Chemists, **41**, 1958, p. 432.
40. *Kirchner, J. G., Miller, J. M.* J. Agr. Food Chem., **5**, 1957, p. 283.
41. *Randerath, K.* Angew. Chem., **73**, 1961, p. 436.
42. *Randerath, K.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 365.
43. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 22.
44. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **5**, 1961, p. 430.
45. *Lagoni, H., Wortmann, A.* Milchwissenschaft, **11**, 1956, p. 206.
46. *Mangold, H. K.* Fette, Seifen, Anstrichmittel, **61**, 1959, p. 877.
47. *Mottier, M.* Mitt. Gebiete Lebensm. u. Hyg., **49**, 1958, p. 453.
48. *Pastuska, G., Trinks, H.* Chemiker-Ztg., **85**, 1961, p. 535.
49. *Peereboom, J. W. C.* Chem. Weekblad, **49**, 1961, p. 625.
50. *Procháska, Ž.* Chem. Listy, **55**, 1961, p. 974.
51. *Brenner, M., Niederwieser, A.* Experientia, **17**, 1961, p. 237.
52. *Davidek, J., Davidková, E.* Pharmazie, **16**, 1961, p. 352.
53. *Reitsema, R. H., Cramer, F. J., Fass, W. E.* J. Agr. Food. Chem., **5**, 1957, p. 779.
54. *Heřmánek, S., Schwarz, V., Čekan, Z.* Pharmazie, **16**, 1961, p. 566.
55. *Niederwieser, A., Pataki, G.* Chimia, **14**, 1960, p. 378.
56. *Wohlleben, G.* J. Chromatog., **1, 2**, 1958, p. 271.
57. *Waldi, D., Schnackerz, K, Munter, F.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 61.
58. *Gasparič, J., Petránek, J., Borecky, J.* J. Chromatog., **5**, 1961, p. 408.
59. *Giddings, J. C., Eyring, H.* J. Phys. Chem., **59**, 1955, p. 416.
60. *Lederer, E. Scan, J.* Clin. and Lab. Invest., **10**, 1957, p. 69.
61. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, Berlin, Springer-Verlag, 1962.
62. *Randerath, K.* Dünnschicht-Chromatographie, Weinheim-Bergstr., Verlag Chemie, G. m. b. H., 1962.
63. *Garel, Jean-Pierre,* Bull. Soc. Chim. France, **3**, 1964, p. 653.
64. *Bobbitt, J. M.* Thin-Layer Chromatography, New York, Reinhold, 1963.
65. *Truter, E. V.* Thin-Film Chromatography, New York, Interscience, 1963.
66. *Randerath, K.* Dünnschicht-Chromatographie, 2-nd ed., Weinheim-Bergstr., Verlag Chemie, 1965.
67. *Pataki, G.* Dünnschicht-Chromatographie in der Aminosäure und Peptid-Chemie, Berlin, Walter de Gruyter, 1966.
68. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie ein Laboratoriumshandbuch, ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
69. *Kirchner, J. G.* Thin-Layer Chromatography, In: Technique of Organic Chemistry, vol. XII, editor Weissberger A. New York, Interscience, 1967.
70. *Pelick, M., Bolliger, H. R., Mangold, H. K.* Advan. Chromatogr., **3**, 1966, p. 85.
71. *Stahl, E., Fresenius, Z.* Anal. Chem., **234**, 1968, p. 1.
72. *Lewin, S. Z.* J. Chem. Educ., **40**, 1963, p. 167.

Scanned with OKEN Scanner

2. Mecanismul de separare a substanţelor prin cromatografie în strat subţire

2.1. Descrierea mecanismului de separare a substanţelor

O definiţie universal admisă a cromatografiei în strat subţire este greu de formulat din cauza complexităţii proceselor ce au loc la separarea substanţelor [1—12].

Mecanismul de separare se bazează pe distribuţia diferită a componenţilor unui amestec între două faze dintre care una staţionară (solid adsorbant sau lichid depus pe suprafaţa unui adsorbant) şi cealaltă mobilă (lichid), străbătînd faza staţionară. În funcţie de natura fazei staţionare se consideră C.S.S. de adsorbţie (solid⇌lichid) sau de repartiţie (lichid⇌lichid) [1]. Componenţii amestecului de separat sînt antrenaţi de către faza mobilă, parcurgînd astfel faza staţionară. Viteza lor de migrare este însă diferită, depinzînd de modul în care componenţii se distribuie între cele două faze. Astfel, cu cît componentul este mai puţin adsorbit (absorbit) pe faza staţionară, cu atît viteza sa de migrare este mai apropiată de cea a fazei mobile. Diferenţa între vitezele de migrare ale componenţilor poate fi explicată dacă se consideră mişcarea moleculelor componenţilor într-o unitate de timp (1 s). Moleculele vor fi angrenate într-un proces cinetic de adsorbţie-desorbţie astfel încît în medie moleculele unui component vor sta o fracţiune din timp în faza mobilă, mişcîndu-se o dată cu ea, iar restul timpului vor fi imobile, adsorbite pe suprafaţa fazei staţionare. Cu cît componentul va fi mai puternic adsorbit cu atît moleculele sale vor sta un timp mai îndelungat imobile, adsorbite pe suprafaţa fazei staţionare, iar durata antrenării de către faza mobilă va fi mai scurtă, deci şi distanţa parcursă în unitatea de timp va fi mai mică.

În general, viteza cu care migrează zonele de substanţă este determinată atît de viteza de deplasare a developantului cît mai ales de modul de distribuţie a substanţelor de separat între cele două faze. Dacă moleculele unei substanţe sînt mai puternic atrase de moleculele uneia din faze, atunci la stabilirea echilibrului (component) fază mobilă⇌(component) fază staţionară, faza respectivă va conţine un număr mai mare din moleculele acestei substanţe. Astfel, dacă echilibrul este deplasat spre faza mobilă, substanţa va migra relativ repede, dacă din contră echilibrul este deplasat spre faza staţionară,

Scanned with OKEN Scanner

substanța va migra încet. Deplasarea preferențială a echilibrului spre una din faze este determinată de particularitățile structurale ale substanțelor (v. Cap. 5).

Procesul de adsorbție (absorbție) în faza staționară din faza mobilă poate fi descris de izoterma de adsorbție (absorbția) care exprimă concentrația de echilibru C_s din faza staționară în funcție de C_m, concentrația din faza mobilă. Izoterma de adsorbție este liniară la concentrații suficient de mici, ea plafonîndu-se la valori C_s suficient de mari cînd adsorbantul atinge starea de saturație. Adsorbanții buni au în mod normal o capacitate de adsorbție mare și izoterme de adsorbție liniare în domenii de concentrații relativ mari (v. Cap. 3). Coeficientul de repartiție, α, între cele două faze este dat de panta izotermei de adsorbție (v. fig. 3).

Urmărind în continuare o singură moleculă a unei substanțe de separat, în procesul de deplasare se observă că ea va trece succesiv din faza mobilă în faza staționară și din faza staționară în cea mobilă, deplasarea ei longitudinală avînd loc în timp ce se găsește în faza mobilă. Considerînd desfășurarea procesului în unitatea de timp (1 s), molecula se va găsi în medie un timp $\tau < 1$ s în faza mobilă, mișcîndu-se o dată cu ea, restul timpului fiind imobilă, adsorbită în faza staționară. Molecula urmărită se va deplasa în timp de o secundă cu o distanță egală cu viteza efectivă:

$$v_{ef} = \tau \cdot u < u$$

unde u este viteza fazei mobile, iar timpul τ depinde de natura substanței și a fazelor în contact; variațiile valorilor lui τ determină diferențele vitezelor de migrare [10].

Rezultă că raportul: $\frac{v_{ef}}{u} = \tau$ (egal cu R_f, mărime care caracterizează viteza de deplasare a substanțelor, v. mai departe Cap. 2.2).

Datorită faptului că moleculele de developant au o traiectorie foarte complicată printre particulele de adsorbant și prin porii acestora, drumurile parcurse de moleculele unui component în timp ce se află în faza mobilă nu sînt identice. Ca urmare, distanțele parcurse de toate moleculele unui component într-un interval de timp (1 s) se vor distribui în jurul unei distanțe medii. Acest fenomen de împrăștiere a substanței se numește difuziune longitudinală [4—7, 10, 13—16] și are loc independent de difuziunea moleculară propriu-zisă. Ambele difuziuni lărgesc fronturile profilelor cromatografice. Astfel moleculele unei substanțe ocupă la $t = 0$, o anumită suprafață la start. După începerea migrării la $t = \Delta t$, $t = 2\Delta t$ etc., suprafața ocupată de moleculele aceleiași substanțe crește datorită difuziunii

Scanned with OKEN Scanner

ducînd la lăţirea zonelor de substanţă (fig. 2, *a*). Cantitatea totală de substanţă dintr-o zonă rămînînd aceeaşi în timpul migrării, lăţirea zonei este însoţită de scăderea concentraţiei calculată pentru unitatea de suprafaţă sau volum (fig. 2, *b*).

Dacă condiţiile de separare sînt bine alese, fenomenele de difuziune sînt mult mai reduse în cazul cromatografiei în strat subţire decît al cromatografiei pe hîrtie sau coloană, datorită suprafeţei specifice foarte mari a adsorbanţilor, a cantităţilor foarte mici de substanţă luată în lucru şi a duratei scurte necesare pentru separare.

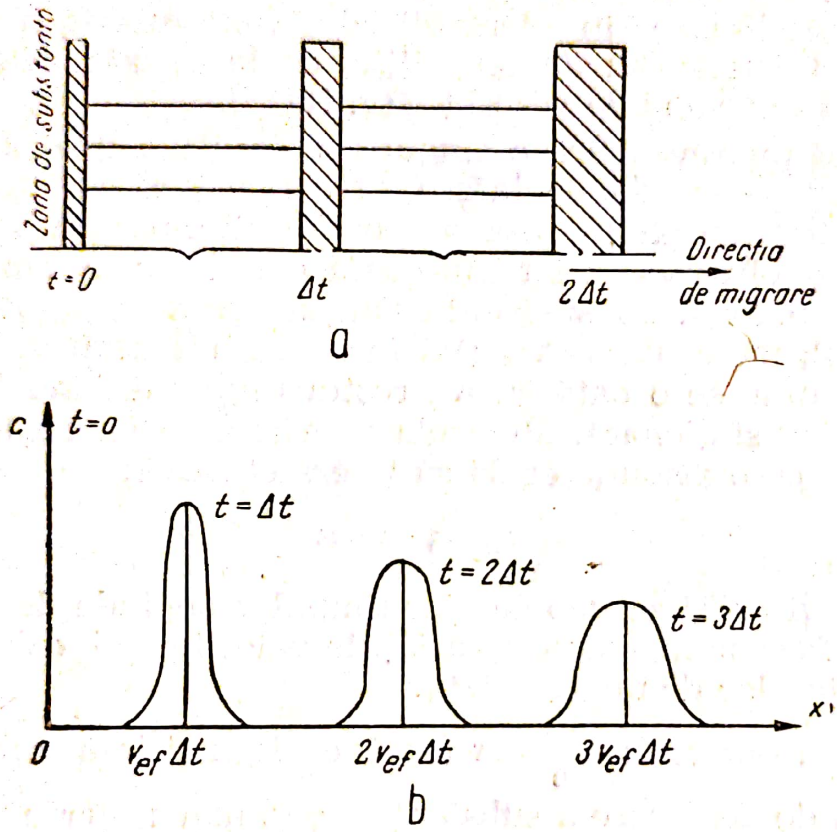


Fig. 2. Influenţa difuziunii asupra zonelor de substanţă:

a — lăţirea zonei de substanţă în timpul migrării, datorită difuziunii; *b* — scăderea concentraţiei de substanţă pe unitatea de suprafaţă, datorită difuziunii, în timpul migrării pe direcţia *Ox*.

Pentru a uşura înţelegerea mecanismului separării prin C.S.S., vom considera cazul a două substanţe x şi y astfel alese încît x să fie mai puternic absorbită în faza mobilă decît în cea staţionară (pe suprafaţa adsorbantului), iar y să fie adsorbită numai în faza staţionară şi indiferentă faţă de faza mobilă. Soluţia amestecului de substanţe este aplicată pe linia de start a plăcii cromatografice, iar

Scanned with OKEN Scanner

dizolvantul este îndepărtat prin evaporare, substanţele rămînînd fixate pe suprafaţa adsorbantului. În etapa următoare, cînd placa cromatografică este introdusă în developant, acesta înaintează prin capilaritate, uniform în masa de adsorbant, pînă cînd întîlneşte zona substanţelor din amestec la linia de start. În acest moment, o anumită cantitate de substanţă x din faza staţionară va trece în faza mobilă pînă se stabileşte un echilibru între concentraţiile substanţei în cele două faze. Dizolvantul plus substanţa x dizolvată va migra mai departe pînă în punctul imediat vecin al fazei staţionare unde concentraţia în component x a fazei staţionare este nulă. Aici începe din nou repartiţia substanţei x între cele două faze. De data aceasta însă va trece substanţă din faza mobilă în faza staţionară, pînă la atingerea echilibrului. Datorită faptului că substanţa x este mai puternic absorbită în faza mobilă decît în cea staţionară, la atingerea echilibrului concentraţia substanţei va fi mai mare în faza mobilă decît în faza staţionară. Substanţa rămasă în faza mobilă este transportată într-un punct vecin al fazei staţionare unde are loc acelaşi proces de repartiţie, cu trecerea unei cantităţi de substanţă x în faza staţionară pînă la atingerea echilibrului, iar substanţa rămasă în faza mobilă este transportată mai departe. Developantul care este antrenat continuu traversînd linia de start va fi din ce în ce mai sărac în substanţă x, de aceea el va deplasa acum substanţa x adsorbită în faza staţionară din fracţiunile de developant anterioare lui, îmbogăţindu-se în substanţă pînă la atingerea stării de echilibru. Astfel, substanţa x este transportată mai departe prin acelaşi mecanism de adsorbţie-desorbţie. La un moment dat, developantul care ajunge la linia de start nu mai găseşte substanţă x, aceasta fiind la momentul dat complet antrenată, iar substanţa y complet insolubilă, astfel încît el trece mai departe pînă ajunge din urmă noua zonă a substanţei x. Aici, developantul va participa la procesul de repartiţie după dinamica arătată, transportînd substanţa x în continuare. În acest mod substanţa înaintează în zonă compactă, datorită vitezei mari cu care se stabileşte echilibrul concentraţiilor între faze. Acest proces de repartiţie între faze se repetă pînă la oprirea developării. Substanţele rămîn după evaporarea developantului, localizate în regiunea în care au ajuns în momentul întreruperii developării. În cazul ales şi urmărit, substanţa x se va afla undeva în apropierea frontului fazei mobile, iar substanţa y în locul unde a fost aplicată iniţial. În exemplul prezentat s-a făcut abstracţie de faptul că şi developantul este adsorbit de faza staţionară (adsorbant). În comparaţie însă cu substanţele conţinute în amestecul de separat developantul este astfel ales încît aproape întotdeauna este mai puţin adsorbit,

Scanned with OKEN Scanner

ceea ce înseamnă că substanţele sînt adsorbite preferenţial şi astfel deplasează dizolvantul de pe suprafaţa adsorbantului [1].

Mecanismul de adsorbţie-desorbţie între faze trebuie înţeles ca un proces continuu. In timp ce dintr-o fracţiune de developant încărcată cu substanţă, o parte este adsorbită în faza staţionară, fracţiunea de developant imediat următoare desoarbe substanţa adsorbită în faza staţionară pînă la atingerea stării de echilibru şi o transportă mai departe. Explicarea desfăşurării procesului în trepte corespunde unui proces ipotetic ce stă la baza teoriei talerelor [4—7].

Modelul matematic al proceselor de separare prin C.S.S. [10, 17] tinde să particularizeze relaţiile şi ecuaţiile generale ale cromatografiei prin clarificarea dependenţei parametrilor acestor ecuaţii de specificul cromatografiei în strat subţire. Separarea substanţelor este un proces de neechilibru, bidimensional, de propagare şi difuziune, descris de ecuaţii de forma:

$$\frac{\partial C_m}{\partial t} + v_{ef} \frac{\partial C_m}{\partial x} = D_{lg} \frac{\partial^2 C_m}{\partial x^2} + D_{tr} \frac{\partial^2 C_m}{\partial y^2} \qquad (1)$$

unde x este direcţia de migrare; y — direcţia transversală pe x; v_{ef} — viteza efectivă de deplasare, calculată, în funcţie de fracţiunea de timp τ de rămînere a substanţei în faza mobilă, după relaţia: $v_{ef} = u\,\tau = u\,R_f$; iar D_{lg} — coeficientul de difuziune longitudinală; D_{tr} — coeficienţi de difuziune transversală, calculaţi conform relaţiilor:

$$D_{lg} = D_{ef} + (1 - R_f)\, u^2\, \overline{\tau}$$

$$D_{tr} = D_{ef}$$

unde: D_{ef} este media coeficienţilor de difuziune moleculară din faza mobilă (D_m) şi din faza staţionară (D_s), adică:

$$D_{ef} = R_f D_m + (1 - R_f) D_s$$

unde: R_f şi $1 - R_f$ sînt fracţiunile de timp de rămînere a substanţei în faza mobilă, respectiv în faza staţionară.

In calculul difuziunii longitudinale D_{lg} intră şi termenul $(1 - R_f)\, u^2\, \overline{\tau}$ datorit întîrzierii $\overline{\tau}$, care reprezintă timpul în care se stabileşte echilibrul între cele două faze.

Soluţia ecuaţiei (1) indică o distribuţie gaussiană a substanţei în pată:

$$C_m(x, y, t) = \frac{q}{\sqrt{4\pi^2 \delta_x^2\, \delta_y^2}} \cdot e^{-\frac{(x-X)^2}{2\delta_x^2} - \frac{(y-Y)^2}{2\delta_y^2}}$$

Scanned with OKEN Scanner

Pata are formă de elipsă cu centrul la timpul $t>0$ în punctul X, Y. Dimensiunile petei sînt date de axele δ_x și δ_y ale elipsei, respectiv de direcția de migrare și de direcția transversală pe direcția de migrare, q reprezentînd cantitatea totală de substanță din pată. Distribuția substanțelor poate fi caracterizată prin poziția maximului: $X=X_0+v_{ef}t$; $Y=Y_0$ și prin dimensiunile lui care cresc în timp datorită difuziunii, după relațiile:

$$\delta_x^2 = \delta_{x(t=0)}^2 + 2\,D_{lg}\cdot t$$
$$\delta_y^2 = \delta_{y(t=0)}^2 + D_{tr}\cdot t$$

Aria petei fiind proporțională cu $\delta_x\cdot\delta_y$, crește în timp, iar concentrația maximă a petei scade în timp conform relației (v. și fig. 2, *a*, 2, *b*):

$$C_{m(max)} = \frac{q}{\sqrt{4\pi^2\,\delta_x^2\,\delta_y^2}}$$

În modelul „teoriei talerelor" [4—7] se consideră stratul (coloana) împărțit în unități elementare ipotetice denumite talere teoretice. Procesul este considerat discontinuu, developantul fiind introdus în impulsuri în volume egale cu acel al unui taler. Timpul între două introduceri (impulsuri) succesive τ, este egal cu timpul necesar pentru atingerea echilibrului între faze pe talerele coloanei. Procesul astfel imaginat trece în proces real, continuu, dacă volumul talerului este suficient de mic, iar numărul de talere suficient de mare.

Înălțimea echivalentă a talerului teoretic H, corespunde lungimii minime de coloană pe care se poate stabili echilibrul între cele două faze și este o caracteristică foarte importantă a coloanei, dependentă de constantele fazelor în contact; H determină puterea de separare a coloanei, respectiv a stratului. Pentru o coloană de lungime L, pe care zona de substanță ajunge la o lățime δ_x, H este limitat (inferior) de intensitatea difuziunii longitudinale:

$$H = \frac{\delta_x^2}{16\,R_f\,L}$$

numărul de talere al coloanei fiind $\bar{n} = \frac{L}{H}$.

H depinde de diametrul d_p al particulelor de adsorbant, de viteza u a developantului și de alte constante ale celor două faze conform relațiilor:

$$H = \frac{A}{d_p} + B\,d_p^3$$
$$H = \frac{A'}{u} + B'\,u$$

unde AA' și BB' sînt constante.

Scanned with OKEN Scanner

În practică se aleg valori optime pentru d_p și u, anume acelea care dau valori minime pentru H și o putere de rezoluție cît mai mare.

O altă caracteristică esențială a stratului subțire este dată de forma izotermei de adsorbție:

$$C_s = f(C_m).$$

Ea determină viteza efectivă conform formulei:

$$v_{ef} = \tau u \qquad \tau = R_f = \frac{1}{1 + \frac{df(C_m)}{dC_m}}$$

unde $\frac{df(C_m)}{dC_m}$ este panta izotermei de adsorbție.

Considerațiile anterioare asupra deplasării petei de substanță sînt valabile în cazul unei izoterme de adsorbție liniare (aproximativ liniare) pentru care $\frac{}{dC_m} \simeq$ const și deci $v_{ef} \simeq$ const. Profilele zonelor de substanță nu se deformează. Datorită dependenței parametrilor R_f și v_{ef} de C_m, cînd izoterma de adsorbție nu este liniară apar soluții mai complicate ale ecuației (1), cu deformări ale profilelor zonelor de substanță.

Randerath [18] reprezintă într-o imagine sugestivă forma izotermelor de adsorbție în cazul unei separări ideale, normale și necorespunzătoare (fig. 3).

În cazul ideal (fig. 3, *a*), izotermele de adsorbție sînt liniare. Substanțele A și B aplicate la start în cantități molare egale, au izoterme de adsorbție liniare, dar diferite. Pentru substanța A, izoterma de adsorbție se apropie de ordonată indicînd adsorbția mai mare a substanței A în faza staționară. Pentru substanța B, izoterma de adsorbție se apropie de abscisă, indicînd absorbția mai mare a acesteia în faza mobilă. Petele de substanță sînt bine delimitate, nu se deformează, iar în interiorul lor substanța este omogen distribuită.

În cazul normal (fig. 3, *b*), izotermele de adsorbție sînt, de asemenea, liniare (aproximativ liniare). Stabilirea echilibrului de repartiție între faze nu are loc instantaneu, substanța difuzează, și de aceea petele de substanță au marginile difuze. Forma petelor se păstrează între anumite limite dar cu o repartiție neuniformă a substanței în interiorul petei.

În cazul extrem indicat în fig. 3, *c*, izotermele de adsorbție ale celor două substanțe sînt curbe, separarea este necorespunzătoare.

Scanned with OKEN Scanner

Substanţele difuzează mult şi petele lor apar sub formă de cozi. Această situaţie se întîlneşte atunci cînd condiţiile de separare nu sînt potrivite (adsorbantul, developantul), sau cînd concentraţia substanţelor de separat este foarte mare, depăşind posibilităţile de ad-

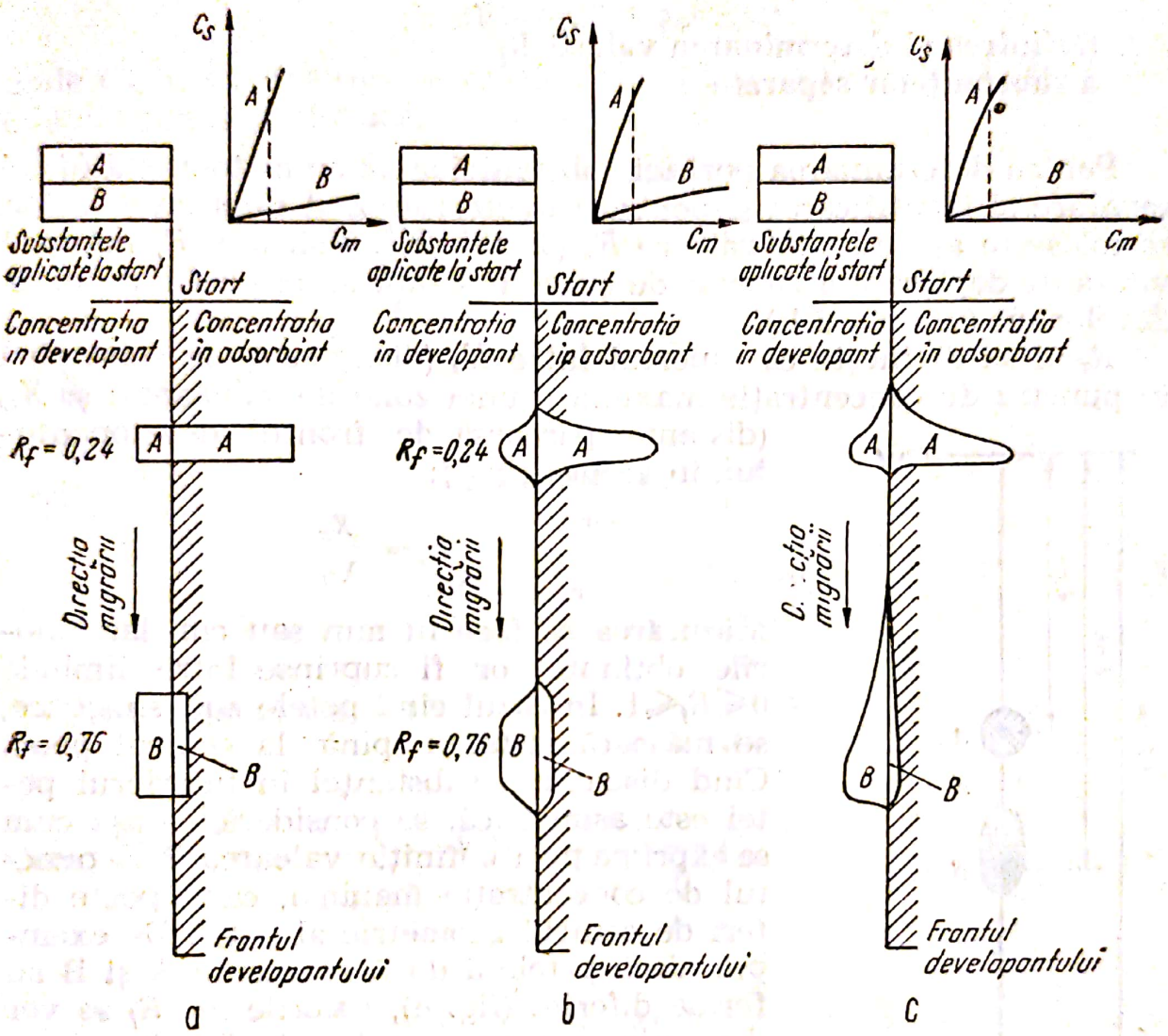


Fig. 3. Cazurile limită şi cazul normal al izotermelor de adsorbţie în C.S.S.: *a* — cazul ideal; *b* — cazul normal; *c* — cazul izotermelor necorespunzătoare.

sorbţie (absorbţie) ale fazei staţionare. Fiecare adsorbant are o capacitate limitată de adsorbţie pentru o anumită grosime de strat. Pe de altă parte puterea de adsorbţie scade mult chiar atunci cînd numai o mică parte a centrelor lor de adsorbţie sînt ocupate, deoarece se ocupă preferenţial poziţiile cele mai active (v. Cap. 3). În acest caz, chiar şi la concentraţii mici ale substanţelor de separat, se obţin izoterme neliniare cu pete alungite sub formă de cozi. Pen-

Scanned with OKEN Scanner

tru înlăturarea acestui fenomen supărător, se intervine fie prin scăderea concentraţiei de substanţă aplicată, fie prin activarea suprafeţelor de adsorbţie, sau înlăturarea dizolvanţilor din developanţi care pot bloca centrele active ale adsorbantului.

2.2. Definirea şi determinarea valorii R_f a substanţelor separate

Pentru determinarea poziţiei substanţelor pe cromatogramă (după separare şi identificare) şi pentru caracterizarea şi diferenţierea lor, se foloseşte aşa numita valoare R_f [4, 18—20]. Valoarea R_f măsoară viteza de deplasare a zonelor de substanţă faţă de cea a frontului de developant (v. Cap. 2.1.).

R_f-ul se defineşte ca raportul între X_s (distanţa de la start pînă în punctul de concentraţie maximă a unei zone de substanţă) şi X_D (distanţa parcursă de frontul developantului, în acelaşi timp):

$$R_f = \frac{X_s}{X_D}$$

Măsurarea se face în mm sau cm, iar valorile obţinute vor fi cuprinse între limitele $0 \leqslant R_f \leqslant 1$. În cazul cînd petele sînt simetrice, se măsoară distanţa pînă la centrul petei. Cînd distribuţia substanţei în interiorul petei este asimetrică, se consideră — aşa cum se exprimă prin definiţie valoarea R_f — punctul de concentraţie maximă, care poate diferi de centrul geometric al petei. De exemplu, dacă petele a două substanţe A şi B au forme diferite (fig. 4), valorile lor R_f se vor determina aşa cum rezultă din figură.

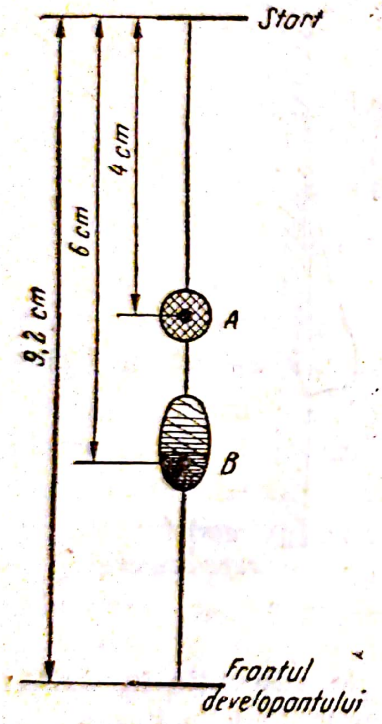


Fig. 4. Determinarea valorii R_f pentru două substanţe:
— pentru substanţa A: $R_f = \frac{X_s}{X_D} = \frac{4}{9{,}2} = 0{,}43$;
— pentru substanţa B: $R_f = \frac{X_s}{X_D} = \frac{6}{9{,}2} = 0{,}65$.

Între valoarea R_f şi coeficientul de repartiţie α, există următoarea relaţie:

$$\alpha = \frac{q_m}{q_s}\left(\frac{1}{R_f} - 1\right)$$

unde: q_m şi q_s sînt secţiunile transversale ale fazei mobile, respectiv staţionare, iar $q_m/q_s = k$, este raportul volumelor fazelor. Dacă se urmăreşte un proces de separare şi se consideră că la timpul t a trecut un vo-

Scanned with OKEN Scanner

volum V de developant, iar frontul zonei de substanță se găsește la distanța l, la $t+\Delta t$ trece un volum $V+dV$ de developant iar frontul zonei de substanță migrează la l dl, bilanțul pe zona dl va fi:

$$C_m\,dV=(q_sC_s+q_mC_m)dl \tag{1}$$

unde C_m și C_s sînt concentrațiile în mol/l ale substanței în faza mobilă și în faza staționară.

Dar: $$dV=u\cdot q_m dt$$

deci: $$C_m u\cdot q_m dt=(q_sC_s+q_mC_m)dl \tag{2}$$

$$\text{sau: } u\cdot dt=\left(\frac{q_s}{q_m}\cdot\frac{C_s}{C_m}+1\right)dl \tag{3}$$

Se știe că: $\frac{C_s}{C_m}=\alpha$

deci: $$u\cdot dt=\left(\frac{q_s}{q_m}\,\alpha+1\right)dl$$

$$(dl)_{component}=\frac{u}{1+\alpha\frac{q_s}{q_m}}dt \tag{4}$$

Pentru developant $\alpha=0$

$$(dl)_{developant}=u\cdot dt$$

Cum: $$X_s=\int_0^{X_s}dl=\frac{u}{1+\alpha\frac{q_s}{q_m}}\int_0^t dt=\frac{u}{1+\alpha\frac{q_s}{q_m}}t \tag{5}$$

$$X_D=\int_0^{X_D}dl=u\int_0^t dt=u\cdot t \tag{6}$$

Rezultă că:

$$R_f=\frac{X_s}{X_D}=\frac{\frac{u\cdot t}{1+\alpha\frac{q_s}{q_m}}}{u\cdot t}=\frac{1}{1+\alpha\frac{q_s}{q_m}} \tag{7}$$

$$\frac{1}{R_f}=1+\alpha\frac{q_s}{q_m}$$

Scanned with OKEN Scanner

deci:

$$\alpha = \frac{q_m}{q_s}\left(\frac{1}{R_f} - 1\right) \tag{8}$$

sau:

$$\alpha = k\left(\frac{1}{R_f} - 1\right) \tag{9}$$

Relaţia (7) devine:

$$R_f = \frac{1}{1 + k\alpha} \tag{10}$$

Dacă se cunoaşte una din cele două mărimi, α sau R_f, se poate calcula cea de a doua. De obicei, valoarea R_f se poate uşor determina experimental (reproductibilitatea ei însă este mai greu de realizat), iar în anumite cazuri se poate deduce din calcul [4, 21—26].

2.2.1. *Reproductibilitatea valorii R_f*

Numeroşi cercetători s-au ocupat de aspectul reproductibilităţii valorii R_f în cromatografia în strat subţire, datorită faptului că aceasta este mai greu reproductibilă decît în cromatografia pe hîrtie [23—26]. Valorile R_f în cromatografia în strat subţire depind de numeroşi factori care pot varia de la o separare la alta şi chiar în cursul aceleiaşi separări astfel încît evaluarea rezultatelor pe această bază poate fi mult îngreunată.

După Brenner, Pataki, Waksmundzki, Brodasky şi alţii [4, 23, 25—30], valorile R_f în cromatografia în strat subţire sînt reproductibile dacă se respectă următorii parametrii:

— *Calitatea adsorbantului sau suportului folosit.* Deoarece calitatea adsorbantului poate varia sensibil, uneori chiar de la un ambalaj la altul, este recomandabil ca pentru determinări de mare precizie să se utilizeze numai acelaşi adsorbant. De asemenea, valoarea R_f este în mod special dependentă de mărimea particulelor adsorbantului [11, 31, 32].

— *Gradul de activare al stratului. Umiditatea.* Activitatea adsorbanţilor se determină prin timpul şi temperatura de încălzire. De aceea, plăcile cromatografice trebuie întotdeauna supuse la tratament identic. Umiditatea relativă în timpul aplicării probelor şi în timpul developării în vasul de cromatografie este, de asemenea, de mare importanţă. Pentru evitarea modificărilor de umiditate în timpul cromatografierii, s-au construit vase speciale cu atmosfera controlată [25, 26, 30, 33—35]. S-a constatat de pildă că, valorile R_f pe straturi cu silicagel sînt mai reproductibile în cazul plăcilor

Scanned with OKEN Scanner

cromatografice uscate în aer liber (C.S.S. de repartiție), decît în cazul plăcilor cromatografice activate [36].

— *Grosimea stratului.* Diferența între straturile de 0,2 pînă la 0,3 mm poate fi ignorată. Dacă se utilizează straturi mai groase decît 0,5 mm apar diferențe nete între valorile R_f [36, 37]. Grosimea stratului trebuie să fie aproximativ constantă de-a lungul plăcii cromatografice.

Calitatea dizolvanților. Se folosesc dizolvanți de puritate avansată, iar amestecul developant trebuie să se prepare proaspăt. (Deseori, în prezența alcoolilor și a acizilor pot rezulta, în timp, esteri care modifică sensibil polaritatea amestecului) [18].

Saturarea atmosferei din vasul cromatografic. Valoarea R_f a substanțelor este esențial modificată în funcție de saturarea atmosferei din vasul cromatografic cu vaporii developantului [30, 33, 38—41]. Dacă atmosfera vasului nu este saturată, se evaporă dizolvanții de pe strat pînă la realizarea unui echilibru, astfel că devine necesară o cantitate mai mare de developant pentru a parcurge o distanță dată. Timpul de developare se mărește în acest mod și valorile R_f cresc [42, 43]. Totodată, viteza de evaporare scăzînd de la margini spre mijlocul plăcii cromatografice, se obțin așa numitele „fenomene de margine", cînd valorile R_f cresc continuu de la centrul plăcii cromatografice spre margini, în funcție de poziția petei [19, 44].

— *Tehnica de developare folosită* (ascendentă, orizontală etc.) [4, 18, 19].

— *Cantitatea de substanță.* Valoarea R_f depinde de cantitatea de substanță aplicată la start, numai între limite largi și în special la concentrații foarte mari [3, 19].

— *Temperatura.* În cromatografia în strat subțire, temperatura constantă nu este atît de importantă ca în cazul cromatografiei pe hîrtie. Datorită duratei scurte de developare, variațiile de temperatură în limite înguste sînt neesențiale [27, 45, 46]. Variațiile mari de temperatură influențează însă sensibil atît valorile R_f cît și puterea de rezoluție care crește cu temperatura [47].

— *Prezența impurităților.* Valorile R_f sînt afectate uneori sensibil de prezența impurităților (în mod special în cromatografia de adsorbție). De asemenea, în prezența unui număr mare de componente în amestecul de separat, valorile R_f ale substanțelor se influențează reciproc.

Deoarece, așa cum s-a arătat, este dificil să se obțină valori R_f reproductibile, în determinările curente se folosește o valoare R_f re-

Scanned with OKEN Scanner

lativă adică se determină valoarea R_f a substanței de cercetat, comparativ cu aceea a unei substanțe etalon.

Deseori, din motive de simplitate, pentru a nu opera cu valori subunitare, în determinări și studii cromatografice, se exprimă valoarea $R_f \times 100$, adică hR_f.

În cazul developării multiple [18—20], cînd e nevoie să se separe substanțe cu valori R_f mici și apropiate, la fel ca și în cazul cromatografiei pe hîrtie [48, 49], valoarea R_f se calculează după relația:

$$^nR_f = 1—(1—R_f)^n$$

unde ^nR_f este valoarea obținută după n developări [19, 49].

În afară de valoarea R_f, se folosesc pentru caracterizarea substanțelor și valorile R_x și R_m, mai puțin uzuale.

Valoarea R_x [7] reprezintă raportul între distanța parcursă de o probă de referință și distanța parcursă de proba de cercetat,

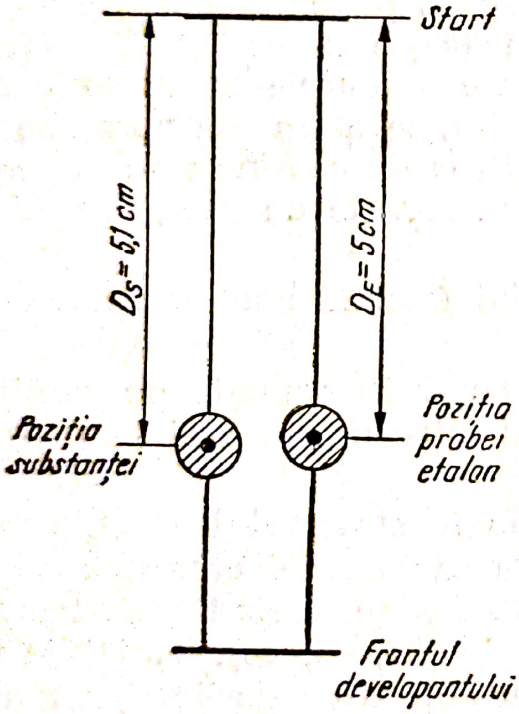


Fig. 5. Determinarea valorii R_x:

$$R_x = \frac{D_E}{D_S} = \frac{5}{5,1} = 0,98.$$

față de start. Dacă cele două substanțe migrează cu aceeași viteză (sînt identice), R_x trebuie să aibă valori foarte apropiate de unitate (fig. 5).

Valoarea R_m postulată de către Martin și Synge și studiată de către numeroși cercetători pentru cromatografia pe hîrtie, a fost reluată în cazul cromatografiei în strat subțire de către Brenner și Pataki [23] și alți autori [50—54]. Ei au constatat existența unei li-

niarități bazate pe proprietăți aditive, între: $R_m = \lg\left(\frac{1}{R_f} - 1\right)$ și numărul atomilor de carbon sau de grupe $-CH_2$, dintr-o moleculă. Liniaritatea constatată în cazul moleculelor simple nu mai este respectată în cazul moleculelor mai complicate, mai ales în cazul C.S.S. de adsorbție [23]. De aceea, valoarea R_m se folosește rar în C.S.S. de adsorbție [50—52].

Bibliografie

1. *Cassidy, H. G.* Fundamentals of Chromatography. In: Technique of Organic Chemistry, vol. X, editor Weissberger, A., New York, Interscience, 1957.
2. *Cassidy, H. G.* Adsorption and Chromatography. In: Technique of Organic Chemistry, vol. V, editor Weissberger, A., New York, Interscience, 1951.
3. *Martin, A. J. P.* Ann. Rev. Biochem., **19**, 1950, p. 517.
4. *Brenner, M., Niederwieser, A., Pataki, G., Weber, R.* Dünnschicht-Chromatographie, editor E. Stahl, Berlin, Springer-Verlag, 1962, p. 79.
5. *Giddings, J. C.* Advances in Chromatography, vol. I, Edward Arnold, Marcel Dekker, Londra — New York, 1965.
6. *Giddings, J. C.* Dynamics of Chromatography, Part I, Principles and Theory, Edward Arnold, Marcel Dekker, Londra — New York, 1965.
7. *Racinski, V. V.* Vedenie v obșciiu teoriiu dinamiki sorbții i hromatografii, Moscova, Izdatelstvo Nauka, 1964.
8. *Hesse, G., Engelhard, H.* J. Chromatog., **21**, 1966, p. 223.
9. *Pöhm, M., Jaag, E.* Österr. Chem. Ztg., **68**, 1967, p. 389.
10. *Belenky, B. G., Nesterov, V. V., Gankina, E. S., Smirnov, M. M.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 360.
11. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **25**, 1968, p. 274.
12. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 1.
13. *Wink, H.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 496.
14. *Wink, H.* J. Chromatog., **24**, 1966, p. 39.
15. *Wink, H.* J. Chromatog., **25**, 1966, p. 71.
16. *Kambara, T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 33.
17. *Belengy, B. G., Nesterov, V. V., Smirnov, M. M.* Zh. Fiz. Khim., **42**, 1968, p. 1484.
18. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, ed. II, New York, Academic Press, 1966, p. 53, 67.
19. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumshandbuch, ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967, p. 125.
20. *Kirchner, J. G.* Thin-Layer Chromatography. In: Technique of Organic Chemistry, vol. XII, editor Weissberger, A. New York, Interscience Publishers, 1967, p. 193.
21. *Garel, J. P.* Bull. Soc. Chim. France, **3**, 1964, p. 653.
22. *Kelemen, I., Pataki, G.* Fres. Zeitschr. Anal. Chem., **195**, 1963, p. 81.
23. *Brenner, M., Pataki, G.* Helvetica Chim. Acta, **44**, 1961, p. 1420.
24. *Dallas, M. S. J.*, J. Chromatog., **17**, 1965, p. 267.
25. *Waksmundzki, A., Rozylo, J.* Chem. Anal., **13**, 1968, p. 463.
26. *Ebing, W.*, J. Chromatog., **44**, 1969, p. 81.

Scanned with OKEN Scanner

27. *Brenner, M., Niederwieser, A., Pataki, G., Fahmy, A. R.* Experientia, **18**, 1962, p. 101.
28. *Waksmundzi, A.* Chem. Anal., II, 1966, p. 101.
29. *Brodasky, T. F.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 996.
30. *De Zeeuw, R. A.* Anal. Chem., **40**, 1968, p. 915.
31. *Starke, L., Hampl, R.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 347.
32. *Ackermann. G., Pray, H. P.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 53.
33. *Geiss, F., Sandroni, S., Schlitt, A.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 290.
34. *Jänchen, D.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 261.
35. *Brenner, M.* J. Chromatog., **23**, 1968, p. 199.
36. *Kelemen, J., Pataki, G.* Z. Analyt. Chem., **195**, 1963, p. 81.
37. *Pastuska, G., Petrowitz, H. J.* Chemiker Ztg., **86**, 1962, p. 341.
38. *Pataki, G., Keller, M.* Helv. Chim. Acta, **46**, 1963, p. 1054.
39. *Geiss, F., Schlitt, H.* Chromatographie, **1**, 1968, p. 387.
40. *De Zeeuw, R. A.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 43.
41. *Pitra, J.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 220.
42. *Stahl, E.* Pharmaz. Rdsch., **1**, 1959, p. 1.
43. *Copius, J. W., Beckes, W.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 43.
44. *Honegger, C. G.* Helv. Chim. Acta, **46**, 1963, p. 1730.
45. *Geiss, F., Schlitt, H.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 208.
46. *Tamaș-Pelloni, V., Voinescu, R., Mihalaș, E., Sterescu, M., Simionovici, R.* Medicamente, Studii și cercetări, C.D.M.I.C.P. nr. 3, 1968, p. 164.
47. *Turina, S., Soljic, Z, Marjanovic, V.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 81.
48. *Hais, I. M., Macek, K.* Cromatografia pe hîrtie, București, Editura tehnică, 1960, p. 142.
49. *Toma, J. A.* Analytic. Chem., **35**, 1963, p. 241.
50. *Nagasawa, H. T., Froser, P. S., Elberling, J. A.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 300.
51. *Barrett, G. C., Khokhar, A. R.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 47.
52. *Soczewinski, E., Golkiewicz, W., Szumilo, H.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 1.
53. *Gütlbauer, F.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 104.
54. *Bieganowska, M., Soczewinski, E., Bieganowska, St.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 121.

3. Adsorbanți folosiți în cromatografia în strat subțire

3.1. Prezentare generală

În cromatografia în strat subțire, separarea substanțelor este determinată de interacțiunile dintre moleculele fazei staționare, substanței de separat și fazei mobile. În timp ce numărul adsorbanților

Scanned with OKEN Scanner

utilizaţi direct ca fază staţionară, sau ca suport pentru o fază staţionară lichidă este relativ redus, numărul dizolvanţilor şi amestecurilor de dizolvanţi care se pot utiliza pentru developare, este foarte mare. Pentru un acelaşi adsorbant, se pot folosi mai mulţi developanţi potriviţi. O proprietate importantă a adsorbanţilor, care permite lărgirea limitelor lor de utilizare, este aceea că printr-o tratare prealabilă potrivită se pot obţine trepte de activare cu putere de adsorbţie diferită [1].

În acord cu clasificările lui Strain [2] şi Hesse [3, 4] se poate face o delimitare între adsorbanţii anorganici şi cei organici. Majoritatea adsorbanţilor anorganici (silicagel, oxid de aluminiu etc.) sînt adsorbanţi puternici, pot funcţiona direct ca fază staţionară în C.S.S. de adsorbţie şi se folosesc pentru separarea substanţelor insolubile sau foarte puţin solubile în apă. Adsorbanţii organici (amidonul, celuloza etc.) sînt, în general, adsorbanţi slabi. Cu unele excepţii, se folosesc ca suport în C.S.S. de repartiţie, cînd fixează pe suprafaţa lor apă, sau un alt dizolvant polar, sau se îmbibă cu substanţe nemiscibile cu apa, în C.S.S. de repartiţie cu faze inverse. Se folosesc mai ales pentru separarea substanţelor mai mult sau mai puţin solubile în apă.

În general, un adsorbant ca să fie utilizat în C.S.S. trebuie să îndeplinească anumite condiţii:

— să nu reacţioneze cu substanţele de separat sau cu developantul;

— să nu reacţioneze cu reactivul de identificare;

— să reziste la temperatura de 100°C şi peste 100°C (temperatură la care trebuie încălzite, deseori, plăcile cromatografice);

— să prezinte o suprafaţă activă, utilizată fie direct în C.S.S. de adsorbţie, fie indirect în C.S.S. de repartiţie prin intermediul unei faze staţionare lichide;

— să aibă o suprafaţă specifică mare, respectiv o granulaţie fină (sub 100 μm) şi număr mare de pori de diametru mic. Viteza de deplasare a developantului este funcţie de dimensiunea particulelor. Astfel, cu cît dimensiunea particulelor este mai mică, cu atît viteza de deplasare este mai mică, fapt important pentru stabilirea echilibrului de repartiţie. Invers, în cazul particulelor mari, vitezele de deplasare sînt mari, însă separarea substanţelor este necorespunzătoare.

Adsorbanţii anorganici cei mai întrebuinţaţi sînt: silicagelul de diferite calităţi şi tipuri comerciale; oxidul de aluminiu cu trepte de activare diferite şi tipuri comerciale diferite; kieselgurul; oxidul de magneziu; silicatul de magneziu şi talcul. Ceilalţi adsorbanţi anor-

ganici citaţi pentru cazuri izolate, ca pulberea de sticlă, hidroxidul de calciu, oxidul de fier hidratat, carbonatul de zinc, amestecurile de adsorbanţi etc. nu s-au impus prin proprietăţi remarcabile.

Dintre adsorbanţii organici, cei mai utilizaţi sînt: pulberea de celuloză de diferite sorturi comerciale, poliamida, sephadexul şi răşinile schimbătoare de ioni. Şi în acest caz literatura indică şi alţi suporţi [5, 6], dar cu aplicabilitate limitată.

3.2. Structura chimică şi unele proprietăţi ale principalilor adsorbanţi folosiţi în C.S.S.

3.2.1. *Silicagelul*

Dintre toţi adsorbanţii folosiţi în C.S.S., silicagelul este cel mai mult utilizat şi întruneşte cele mai multe calităţi de adsorbant universal.

Ca structură chimică este un produs de policondensare a acidului ortosilicic monomer, cu o suprafaţă care prezintă grupe —OH libere. În C.S.S. se utilizează particule cu dimensiuni cuprinse între 1 şi 60 μm. Reprezentarea schematică a unei granule (particule) de silicagel este dată în figura 6.

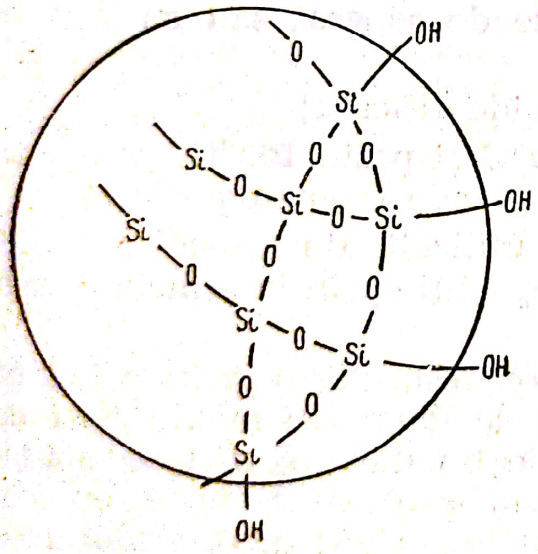


Fig. 6. Structura schematică a granulei de silicagel.

Proprietăţile de suprafaţă ale silicagelului sînt dependente de numărul şi aranjarea grupelor —OH de pe suprafaţă. Hockey şi colab. [7, 8], Fripiat şi colab. [9], Kiselev [10] şi alţii au efectuat studii de mare valoare pentru lămurirea şi cunoaşterea structurii şi a proprietăţilor adsorbante ale silicagelului. Urmărind influenţa temperaturii asupra silicagelului, autorii citaţi au dovedit că apa legată prin adsorbţie este complet îndepărtată la 120°C, eliberînd toate grupele —OH ale suprafeţei active în adsorbţia cromatografică. La temperaturi mai joase, eliberarea grupelor —OH nu este totală, rezultînd stadii de activare inferioare. Pe suprafaţa complet activată se găsesc aproximativ 6 grupe —OH/100 nm² ($n_{OH} \simeq 6$). La

temperaturi de peste 120°C, n_{OH} scade progresiv, putîndu-se realiza diferite grade de deshidratare, iar proprietăţile silicagelului se modifică treptat pînă la 900°C, cînd $n_{OH} \simeq 0$ [8].

Pe silicagelul activat obişnuit la 120°C ($n_{OH} \simeq 6$), se vor adsorbi compuşii donori de electroni, capabili de a forma legături de hidrogen cu grupele —OH ale suprafeţei. De asemenea, compuşii aromatici şi alifatici nesaturaţi se adsorb relativ uşor datorită probabil interacţiunii electrostatice între cîmpul electric pozitiv al suprafeţei silicagelului şi electronii π ai substanţei nesaturate [8, 10]. Efectuînd determinări de adsorbţie în paralel pentru compuşi aromatici (benzen) şi compuşii corespunzători saturaţi (ciclohexan), s-a constatat adsorbţia mult mai mare a benzenului [8]. Din studii comparative se constată o descreştere accentuată a adsorbţiei compuşilor nesaturaţi pe silicagel, la care s-a redus numărul de grupe —OH ale suprafeţei prin încălzire peste 200°C ($n_{OH} < 4$). În acelaşi timp se constată că reducerea grupelor —OH ale suprafeţei silicagelului are un efect foarte mic asupra moleculelor saturate, adsorbţia crescînd uşor. Explicaţia acestei comportări constă în creşterea uşoară a forţelor de dispersie adsorbant-adsorbat [8, 11].

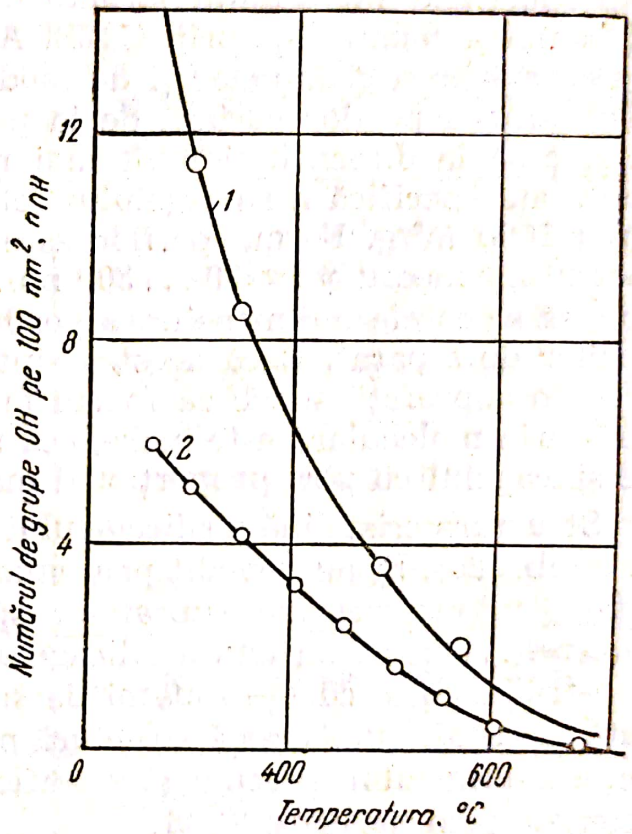


Fig. 7. Suprafaţa hidratată în funcţie de temperatură (în aer):
1 — silicagel impur (2% oxizi străini); 2 — aerosil pur.

Puritatea silicagelului are, de asemenea, mare importanţă [12]. În cazul unor produse industriale de silicagel cu grad de puritate mai scăzut, se găsesc în ele urme de metale alcaline sau oxizi ai metalelor de tranziţie sub formă de incluziuni care alterează proprietăţile silicagelului, crescînd totodată şi conţinutul în apă (fig. 7) [8, 12]. Atît apa cît şi impurităţile se concentrează la suprafaţa silicagelului reducîndu-i mult capacitatea de adsorbţie.

Aciditatea grupelor —OH ale suprafeţei, a fost studiată de Basila [13]. El a dovedit prin metode spectroscopice că grupele —OH

Scanned with OKEN Scanner

ale silicagelului au aciditate mai mare decît grupele —OH ale silanolilor alifatici. Această aciditate a suprafeței silicagelului conduce la multe fenomene interesante de adsorbție. Totodată, se pot obține produși de esterificare completă a suprafeței, numiți „esterosili", total nepolari în raport cu silicagelul neesterificat [14]. Suprafața slab acidă poate fi neutralizată cu $Ca(OH)_2$, în limite de *p*H 5—13, cînd hidrogenul este înlocuit stoechiometric prin ioni de calciu.

O caracteristică deosebit de importantă a silicagelului este structura sa capilară care, corelată cu dimensiunea mică a granulelor (1—60 μm), realizează o suprafață specifică foarte mare. Kiselev [10, 15], Halpaap și Klatyk [16], Snyder [17—20], Heller [21], Ackermann și Frey [22], Iller și colab. [23] și alții, au confirmat prin studii experimentale importanța structurii și dimensiunii porilol pentru eficacitatea separărilor prin C.S.S. Astfel, s-a constatat că, în funcție de mărimea granulelor și de modul de preparare al silicagelului, dimensiunea porilor variază de la pori mici de dimensiuni moleculare, pînă la dimensiuni mult mai mari [24]. Klein [25], apreciază suprafața specifică a silicagelului folosit în C.S.S., ca fiind egală cu circa 1000 m^2/g. Forma porilor este considerată cilindrică, iar diametrul lor mediu $\varphi_p x \simeq 20 \ldots 300$ nm. În determinările practice e nevoie să se coreleze dimensiunea porilor cu ariile moleculare ale compușilor de separat. Dacă acestea sînt mici, un silicagel cu porii fini oferă o suprafață specifică foarte mare și o rezoluție bună. Invers, dacă aria moleculară este mare, cea mai bună separare se va realiza pe silicagelul cu pori proporțional mai mari [16, 17, 21, 24].

Structura cristalină a silicagelului a fost studiată de către De Boer și colab. [26]. Ei au dovedit prin studii spectrale, măsurători de densitate, măsurători ale suprafeței specifice și ale valorilor limită ($n_{OH} \simeq 4 \ldots 6$), că structura silicagelului este asemănătoare cu aceea a β-tridinitului, cu 4—6 atomi de siliciu pentru fiecare 100 nm^2 de față a cristalului. Această structură poate explica proprietățile suprafeței silicagelului, precum și modificările ce au loc la deshidratarea treptată prin încălzire [8, 9].

Principalele preparate comerciale de silicagel folosite în C.S.S. sînt date în tabelul 1.

3.2.2. *Oxidul de aluminiu*

Comportarea oxidului de aluminiu ca adsorbant în C.S.S. a fost mult studiată de Hermanek și colab. [27—29], Snyder [30—33], Halpaap și Reich [34], Brockmann și Schrodder [35], Stahl [36] și alții.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1

Principalele tipuri de silicagel utilizate în C.S.S.

Nr. crt.	Denumirea	Caracteristici
1	Silicagel H — Merck	Fără liant; $\varphi_p^* \simeq 10\,\mu m$ sau 10—40 μm; *p*H $\simeq 7$
2	Silicagel G — Merck	Cu liant (13—15% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$); φ_p^* și *p*H analog 1
3	Silicagel G.F. 254 — Merck	Cu liant (13—15% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$) și indicator fluorescent; φ_p^* și *p*H analog 1
4	Silicagel H.F. 254 — Merck	Fără liant, cu indicator fluorescent; φ_p^* și *p*H analog 1
5	Silicagel N.R. — Merck	Fără liant, puritate avansată
6	Silicagel H.R. — Merck	Cu liant, puritate avansată
7	Silicagel D_5 — Camag	Cu liant (5% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
8	Silicagel D.F.5 — Camag	Cu liant (5% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$), și indicator fluorescent
9	Silicagel D.O. — Camag	Fără liant
10	Silicagel D.F.O. — Camag	Fără liant, cu indicator fluorescent
11	Silicagel D.S.O. — Camag	Fără liant, cu migrare rapidă (particule mari)
12	Silicagel G — M.N.**	Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$ — în diferite proporții)

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1 (continuare)

Nr. crt.	Denumirea	Caracteristici
13	Silicagel N — M.N.**	Fără liant
14	Silicagel S — M.N.**	Cu liant (amidon în diferite proporţii)
15	Silicagel H.R. — M.N.**	Fără liant, puritate avansată
16	Silicagel G — HR/U.V. — M.N.**	Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$), puritate avansată şi indicator fluorescent
17	Adsorbosil — 1. (A.S.L. — S.U.A.)	Silicagel cu liant (10% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$), pH — acid, $\varphi_p^* \simeq 10—20\ \mu m$
18	Adsorbosil — 2. (A.S.L.) — S.U.A.)	Fără liant, φ_p^* şi pH, analog 17
19	Reversil — 3. (A.S.L. — S.U.A.)	Silicagel impregnat cu dimetil-diclorsilan, pentru C.S.S. de repartiţie cu faze inverse
20	Adsorbosil — P-1. (A.S.L.)—S.U.A.)	Cu liant (amidon) şi impregnat cu săruri de fosfor
21	Silicagel — S.G. 41 — Whatman	Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$), φ_p^* — 5—20μm, pH=7
22	Silicagel D.O. — Fluka	Fără liant
23	Silicagel D_5.F. — Fluka	Cu liant (5% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$) şi indicator fluorescent
24	Silicagel D_5 — Fluka	Cu liant (5% $CaSO_4 \cdot H_2O$)
25	Silicagel Woelm	Fără liant

Notă: $^*\varphi_p$ — diametrul mediu al particulei;
** M.N. — Macherey, Nagel Co.

Scanned with OKEN Scanner

Oxidul de aluminiu utilizat în cromatografie se prepară plecînd de la hidroxizii naturali: hidrargilit, bayrit, böhmit şi diaspor. Dintre aceştia hidrargilitul [$Al(OH)_3$, cu o reţea cristalină stratificată] este preferat. În procesul de deshidratare termică a hidrargilitului se obţin diferite stări intermediare cu diferite structuri pînă cînd la 1200°C se obţine forma finală stabilă, forma α-Al_2O_3, identică cu corindonul natural (cristalizat hexagonal) [37, 38]. Din punctul de vedere al C.S.S., interesează formele intermediare, care conţin încă grupe —OH şi o suprafaţă interioară mare dată de structura poroasă a oxizilor respectivi. Aceste forme intermediare se notează cu: $\varkappa$, k, η, ν, δ şi θ [34, 39]. Practic, în funcţie de materia primă şi de numeroşi alţi factori ca: temperatură, presiune, umiditate, viteză de încălzire, durată de încălzire, dimensiunea particulelor, conţinutul în alcalii etc., se obţine una sau alta dintre aceste varietăţi. De aceea, produsele obţinute sînt aproape întotdeauna amestecuri de cel puţin doi oxizi intermediari.

În procesul de deshidratare termică, în funcţie de condiţiile de lucru, rezultă pori de formă şi dimensiuni variabile. La fel ca în cazul silicagelului, dimensiunea şi numărul porilor şi dimensiunea particulelor, determină proprietăţile cromatografice.

Spre deosebire de silicagel, în cazul oxidului de aluminiu suprafaţa specifică este sensibil mai mică; la circa 300°C, atinge o valoare maximă de 300 m^2/g. Deci, oxizii de aluminiu folosiţi în C.S.S., sînt formele obţinute la deshidratarea hidrargilitului în jurul temperaturii de 300—400°C. La temperaturi mai ridicate, o dată cu deshidratarea, are loc şi o scădere a suprafeţei interne care la 1 200°C, cînd se obţine modificaţia α-Al_2O_3, scade practic la zero (1 m^2/g). Preparatele încălzite pînă la circa 400°C, mai conţin încă hidroxid de aluminiu, deci grupe —OH. Acestea dispar complet abia la forma α-Al_2O_3, rezistentă la rehidratare.

Din datele sumare prezentate asupra structurii oxidului de aluminiu utilizat în C.S.S., se poate înţelege că orice modificare a suprafeţei specifice, a raportului între varietăţile de oxizi obţinuţi în amestec, a volumului specific al porilor, a diametrului mediu al porilor, a apei legate chimic şi prin adsorbţie etc., vor conduce la deosebiri de comportare în separările cromatografice [39, 40]. În aceste diferenţe îşi găsesc explicaţie observaţiile practice cu privire la comportarea cromatografică, uneori nereproductibilă, a aceloraşi substanţe pe şarje diferite de adsorbant.

În general, oxidul de aluminiu folosit în C.S.S. este numai rareori anhidru, de obicei are diferite grade de hidratare, aşa cum s-a arătat. Brockmann, Schrodder, Stahl şi Hesse [1, 35, 36, 41] au în-

Scanned with OKEN Scanner

cercat să standardizeze oxidul de aluminiu și au stabilit cîteva grade de activare (de la I la V), care corespund unor conținuturi variabile de apă legată prin adsorbție, de la oxidul anhidru pînă la cel conținînd circa 15% apă (tabelul 2). Această standardizare este justificată și se păstrează în cazul developanților slab polari, cu constante dielectrice mici. În cazul developanților puternic polari, trebuie avut în vedere o deplasare parțială a apei, mai ales în cazul oxidului de aluminiu cu conținut mai mare de apă (gradul III—V) și deci o modificare a stării riguros standardizate.

Tabelul 2

Gradele de activare ale oxidului de aluminiu

Adaos de apă în procente	Gradul de activare după Brockmann și Schrödder,	Acceptarea maximă a azobenzenului, 10^{-5} mol/g
0	I	26
3	II	21
6	III	18
10	IV	13
15	V	0

Stahl [42] și Hermanek [29], propun ca metodă rapidă pentru determinarea gradului de activare a oxidului de aluminiu, procedeul următor: pe un strat de oxid de aluminiu fără liant, avînd o grosime de 0,6 mm, se aplică cîte 20 μg *p*-metoxiazobenzen, galben Sudan, roșu Sudan, *p*-aminoazobenzen și azobenzen, în soluții de tetraclorură de carbon și se developează cu tetraclorură de carbon. Se observă valorile R_f care cresc cu scăderea gradului de activare (tabelul 3).

Tabelul 3

Valorile R_f ale unor coloranți folosiți pentru testarea activității oxidului de aluminiu

Denumirea substanțelor	Gradul de activare după Brockmann și Schrödder			
	II	III	IV	V
Azobenzen	0,59	0,74	0,85	0,95
p-Metoxiazobenzen	0,16	0,49	0,69	0,89
Galben Sudan	0,01	0,25	0,57	0,78
Roșu Sudan	0,00	0,10	0,33	0,56
p-Aminoazobenzen	0,00	0,03	0,08	0,19

Scanned with OKEN Scanner

Activitatea maximă a oxidului de aluminiu corespunde gradului I, iar cea minimă gradului V, așa cum reiese din tabelul 2 (determinarea se efectuează prin reducerea numărului de moli de azobenzen adsorbiți).

Datorită dificultăților de conservare a acestor trepte de activitate, Halpaap [34] propune ca pentru separări cromatografice curente să se folosească starea de umiditate normală, adică activitatea atinsă în starea de echilibru, la temperatură și presiune normale.

În afară de oxidul de aluminiu obișnuit, care este foarte slab bazic, se utilizează și preparate neutre sau slab acide. Oxizii de aluminiu neutri și acizi se obțin printr-o tratare suplimentară a formei bazice cu acid, ceea ce din punct de vedere al activității nu duce la forme noi. În ce privește capacitatea de schimb, la folosirea developanților puternic polari, oxidul de aluminiu bazic este slab cationotrop, iar cel acid este slab anionotrop. *p*H-ul acestor preparate de oxid de aluminiu este aproximativ 7,5 pentru forma neutră, aproximativ 6 pentru forma slab acidă (4 pentru forma acidă) și 9 pentru forma bazică, iar mărimea particulelor în jur de 40 μm. Forma acidă a oxidului de aluminiu are întrebuințări foarte apropiate de cele ale silicagelului. Forma bazică servește la separarea bazelor și a substanțelor amfotere. Alcaloizii, acizii aminați, aminele, coloranții etc., se pot separa în condiții bune pe astfel de straturi, de asemenea, steroizii și insecticidele. Forma neutră este recomandată la separarea lipidelor hidrolizate.

Preparate comerciale de oxid de aluminiu utilizate în C.S.S. sînt date în tabelul 4.

3.2.3. *Kieselgurul*

Kieselgurul este așa numitul pămînt de infuzorii ce se găsește în natură sub formă de zăcăminte, provenind din scoici microscopice de diatomee. Structura sa poroasă îi conferă proprietăți care îl fac utilizabil în C.S.S., datorită marii capacități de a adsorbi lichidele. Compoziția sa chimică este aceea a unui bioxid de siliciu hidratat. De aceea, poate fi utilizat în special pentru separări cromatografice în strat subțire de repartiție, cînd kieselgurul este impregnat cu substanțe hidrofile sau hidrofobe. Este un adsorbant inactiv, avînd o suprafață specifică foarte mică, circa 1 m^2/g și *p*H neutru. Dă rezultate bune la separarea unor produse fitochimice (glucozizi, tonicardiaci primari și secundari din diferite specii de „lanata" etc.). Kieselgurul folosit în C.S.S. este de o calitate specială, cu o puritate

Scanned with OKEN Scanner

Principalele tipuri de oxid de aluminiu utilizate în C.S.S. *Tabelul 4*

Denumirea	Caracteristici
Oxid de aluminiu — G — Merck și G.F.	Cu liant 10%, $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$, sau 10% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$, și indicator fluorescent
Oxid de aluminiu — H — Merck	Fără liant, bazic, neutru sau acid
Oxid de aluminiu P.F. 254 — Merck și P.F. 254+366	Cu indicator fluorescent pentru C.S.S. preparativă
Plăci cromatografice cu oxid de aluminiu F. 254 (tip E) — Merck și F. 254 (tip T)	Plăci cromatografice gata preparate, dimensiuni: 5×20 cm și 20×20 cm și indicator fluorescent
Oxid de aluminiu — G — Fluka	Cu liant 10%, $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$
Oxid de aluminiu — G.F. 254 — Fluka	Cu liant 10%, $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$ și indicator fluorescent
Oxid de aluminiu — H — Fluka	Fără liant
Oxid de aluminiu — H.F. 254 — Fluka	Fără liant, cu indicator fluorescent
Oxid de aluminiu — G — B.D.H.	Cu liant 15%, $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$
Oxid de aluminiu — H — B.D.H.	Fără liant
Oxid de aluminiu — R.S. — Carlo Erba	Puritate avansată, cu sau fără liant
Oxid de aluminiu — D — Camag	Granule foarte fine, viteză de migrare mică
Oxid de aluminiu — DS — Camag	Granule de dimensiuni mai mari, viteză de migrare mare
Oxid de aluminiu — G_5 — Camag	Cu liant 5% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$
Oxid de aluminiu — G_5 — F. 254 — Camag	Cu liant 5% $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$ și indicator fluorescent
Oxid de aluminiu — O — Camag	Fără liant, bazic, $pH \simeq 9{,}5$
Oxid de aluminiu — Voelm	Fără liant, bazic, neutru sau acid, granule fine
Oxid de aluminiu AG_4 — Bio-Rad. Lab. (S.U.A.) Oxid de aluminiu — AG_7 Oxid de aluminiu — AG_{10}	Acid $pH=4$ (fără liant sau cu liant 5%, $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$) Neutru $pH=7$ Bazic $pH=10$

Scanned with OKEN Scanner

avansată, avînd o coloraţie albă-cenuşie şi mărimea granulelor de circa 10 μm. Cîteva din preparatele mai uzuale sînt prezentate în tabelul 5.

Tabelul 5

Principalele tipuri de kieselgur utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Kieselgur G — Merck	Cu liant (15%, $CaSO_4 \cdot 1/2\,H_2O$), granule fine (circa 10 μm), $pH=7$
Celită — 545 — John — Mauville (S.U.A.)	Kieselgur, granule fine
Kieselgur G — B.D.H.	Cu liant (13%, $CaSO_4 \cdot 1/2\,H_2O$)

3.2.4. *Hidroxidul de magneziu*

Snyder [43] şi Keefer [44] au studiat posibilitatea utilizării oxidului de magneziu (dezactivat cu apă) în C.S.S.

Ca adsorbant, hidroxidul de magneziu se aseamănă cu oxidul de aluminiu faţă de care prezintă unele avantaje şi dezavantaje. De exemplu, hidroxidul de magneziu prezintă o capacitate de adsorbţie mai mare decît oxidul de aluminiu, este mai puţin sensibil la activare şi straturile au o bună rezistenţă mecanică chiar fără liant. Spre deosebire de oxidul de aluminiu, hidroxidul de magneziu reacţionează cu iodul, împiedicînd identificarea substanţelor pe această cale; este mai uşor deshidratat de către dizolvanţii anhidri (ceea ce, de fapt, poate fi evitat prin utilizarea dizolvanţilor saturaţi cu apă) şi este solubil în alcool etilic, ceea ce deseori poate deveni o piedică.

Dezactivarea hidroxidului de magneziu prin pierderea apei la temperaturi ridicate sau prin deshidratare cu dizolvanţi, sugerează (fără să fie o dovadă) că grupele —OH de pe suprafaţă ar fi centre active de adsorbţie [43]. Suprafaţa specifică a oxidului de magneziu hidratat standardizat pentru C.S.S., este relativ mică, sub 100 m^2/g [44].

Diferenţa esenţială între oxidul de aluminiu şi hidroxidul de magneziu — ceea ce justifică folosirea acestuia din urmă ca adsorbant în C.S.S. — este adsorbţia mai puternică pe oxid de magneziu

Scanned with OKEN Scanner

a compușilor cu duble legături C=C. Astfel, compușii care diferă numai prin numărul total de duble legături C=C pot fi separați mai bine pe oxid de magneziu hidratat, decît pe alți adsorbanți. Cîteva preparate comerciale de hidroxid de magneziu utilizate în C.S.S. sînt date în tabelul 6.

Tabelul 6

Principalele preparate de hidroxid de magneziu utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Sea Sorb — 43 — Fischer	Hidroxid de magneziu, pulbere fină
Magnezia — West Vaco	Hidroxid de magneziu, fără liant
Hidroxid de magneziu — Fischer	Fără liant, pulbere fină

3.2.5. *Silicatul de magneziu*

Sub numele de Magnesol, Wolfram și colab. [45] recomandă ca adsorbant pentru C.S.S. un derivat sintetic de silicat de magneziu.

Tabelul 7

Principalele preparate de silicat de magneziu utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Silicat de magneziu — Woelm	Cu sau fără liant, $pH \approx 10$
Adsorbosil — M-1 — A.S.L.*, (A.D.M.-1) (S.U.A.)	Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Adsorbosil — M-2 — A.S.L.* (A.D.M.-2) (S.U.A.)	Fără liant
Silicat de magneziu — M-1 — Bio-Rad. Lab. (S.U.A.)	Cu sau fără liant, granule de dimensiuni 2—44 μ m.

A.S.L.* — Applied Science Laboratories.

Scanned with OKEN Scanner

Acesta se găsește sub formă alcalină cu *p*H 9,8 și sub formă neutră avînd *p*H 7,5, iar granulele au dimensiuni medii.

Preparatele comerciale de silicat de magneziu utilizate în C.S.S. sînt date în tabelul 7.

3.2.6. *Pulberea de celuloză*

Sub denumirea de pulbere de celuloză se utilizează un număr foarte mare de preparate comerciale (v. tabelul 8). Pulberea de celuloză se prepară din celuloză de calitate superioară cu puritate mare. Structura internă este aceea a celulozei, polizaharid cu structură macromoleculară avînd formula brută $(C_6H_{10}O_5)_n$ [46].

Asupra structurii celulozei s-au elaborat multe teorii și s-au făcut ample studii, toate atestînd o structură deosebit de complicată [47, 48]. Unitatea structurală a macromoleculei de celuloză este β-D-glucopiranoză-1,4, cu o conformație tip scaun [46, 48]. Prin condensarea a *n* molecule de β-D-glucopiranoză, rezultă macromolecula celulozei. Masele moleculare determinate pentru evaluarea gradului de polimerizare și a lungimii macromoleculei au condus la valori cuprinse între 150 000—220 000 pentru linters (celuloza din bumbac folosită de obicei, pentru prepararea diferitelor suporturi cromatografice [49]). Astfel, macromoleculele apar ca o panglică plată în care legăturile glucozidice formează un zig-zag desfășurat după anumite forme. Asemenea panglici macromoleculare se împachetează laolaltă alipindu-și planurile principale pe direcția axei fibrei, rezultînd o grupare de lanțuri unite în pachet. În interiorul acestor pachete, catenele centrale sînt deplasate cu 1/2 unitate monomeră față de cele marginale datorită unor împiedicări sterice cerute de conformația tip scaun. Se realizează astfel o structură mai puțin compactă, de filament cristalin, considerată ca o prismă monoclinică cu defecte de rețea [49].

În interiorul acestor pachete acționează atît legături de hidrogen inter- și intramoleculare identificate prin studii roentgenografice și în IR cît și forțe mai slabe de tip Van der Waals. După diferiți cercetători, există mai multe posibilități de aranjare a unităților elementare în celula cristalografică. Celulele elementare prin suprapunere dau fibrile elementare, care se unesc în unități structurale mai mari — microfibrile — ceea ce duce la o organizare tridimensională, conferind natură cristalină. Se propune pentru celuloză termenul de structură mezomorfă [49]. Microfibrilele se unesc într-o fibrilă microscopică cu diametru de circa 1 000—3 000 nm, care se stratifică

mai departe, dînd naştere celor trei elemente fundamentale ale fibrei: peretele primar, secundar şi lumenul.

Se presupune că din această agregare complicată de elemente structurale, rezultă o structură lacunară cu numeroase goluri care formează în textura celulozei fisuri şi canale în direcţiile transversală şi longitudinală (de la aproximativ 2 la 10 nm în zona amorfă şi de la circa 50 la 130 nm între fibrile). Aşa se explică faptul că apa provoacă umflarea, gonflarea celulozei şi pe această bază celuloza poate fi considerată ca un xerogel. Acest proces de gonflare este anisotrop, diametrul fibrei crescînd mai mult decît lungimea fibrei. La cantităţi prea mari de apă, sau în timp îndelungat, procesul de gonflare poate duce la destrămarea totală a celulozei, pînă la macromolecule. Macromoleculele fiind paralele cu axa fibrei, sînt îndepărtate unele de altele prin slăbirea sau chiar ruperea legăturilor de hidrogen ce le unesc.

La analiza cu raze X se observă o fază neorientată amorfă şi o fază puternic orientată, cu caracter cristalin, cele două faze fiind caracterizate prin valorile extreme ale energiei de legătură între macromolecule (minimă şi maximă). Între cele două faze pot exista zone mezomorfe, în care macromoleculele sînt parţial orientate. Se pare că faza amorfă intervine în gradul de compactizare al macromoleculelor. Raportul cantitativ dintre aceste două faze, evaluat în special în procesul de adsorbţie, caracterizează fiecare tip de celuloză.

În concluzie, celuloza se caracterizează printr-un număr foarte redus de grupe —OH libere, acestea fiind antrenate în legături de hidrogen care unesc diferitele agregate structurale între ele. De asemenea, este caracterizată printr-un număr foarte mare de canale şi goluri în care se pot adsorbi uşor dizolvanţii polari capabili de a slăbi legătura de hidrogen, sau de a forma, la rîndul lor, legături de hidrogen cu grupele —OH respective. Astfel are loc o lărgire a canalelor ducînd la creşterea capacităţii de pătrundere a dizolvanţilor, ceea ce justifică formarea fazelor staţionare lichide în acest suport. Celuloza conţine o anumită cantitate de apă, în goluri, canale etc., adsorbită chiar în procesul de preparare. Aceasta nu poate fi îndepărtată din cauză că la temperaturi mai ridicate, transformările duc la denaturarea completă a celulozei. Capacitatea mare de a reţine apa şi dizolvanţii polari conferă celulozei calităţile de suport excelent pentru cromatografia de repartiţie lichid — lichid. Astfel, C.S.S. a aminoacizilor pe suport de celuloză a redus considerabil timpul de cromatografiere faţă de cromatografia pe hîrtie, fără să micşoreze calitatea separărilor. Printre preparatele comerciale există sorturi de celuloză simplă şi celuloză modificată cu întrebuinţări foarte variate în C.S.S., atît pentru cromatografia de repartiţie, cît

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 8

Principalele preparate de celuloză simplă și modificată utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Pulbere de celuloză — D.O. — Camag	Fără liant, celuloză simplă
Pulbere de celuloză — D.F.O. — Camag	Fără liant, cu indicator fluorescent
Pulbere de celuloză cristalină — C.C. 41 — Whatman — Reeve Angle și Co.	Fără liant, cu dimensiunea particulelor dată de trecerea lor prin ochiurile sitei de 200. Puritate avansată
Pulbere de celuloză 65 — Schleicher, Schuell	Celuloză pură
Celuloză D.E.A.E. 66 — Schleicher, Schuell	Dietilaminoetil-celuloză (schimbător anionic)
Celuloză ECTEOLA 67 — Schleicher, Schuell	Celuloză, schimbător anionic. Rezultă din reacția epiclorhidrinei și trietanolaminei cu celuloză
Selectacel C M 68 — Schleicher, Schuell	Schimbător cationic, bazat pe carboximetil-celuloză
Selectacel P 69 — Schleicher, Schuell	Schimbător cationic, bazat pe celuloză fosforată
Celex D (D E A E) — Bio Rad. Lab. (S.U.A.)	Dietilaminoetil-celuloză (schimbător anionic)
Celex E (ECTEOLA) — Bio Rad. Lab. (S.U.A.)	Celuloză (schimbător anionic — ECTEOLA)
Celex PEI — Bio Rad. Lab. (S.U.A.)	Polietilenimin-celuloză (schimbător anionic)
Celex CM — Bio Rad. Lab. (S.U.A.)	Carboximetil-celuloză
Celex P — Bio Rad. Lab. (S.U.A.)	Celuloză fosforată
Celex N-1 — Bio Rad. Lab.	Celuloză simplă, pulbere

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 8 (continuare)

Denumirea	Caracteristici
Celex M.X. — Bio Rad. Lab.	Celuloză microcristalină
Avicel (Amer. Viscose, Div. FMC)	Celuloză microcristalină
Celuloză CM — TLC* — Serva	Carboximetil-celuloză
Celuloză — T.L.C.* — Serva	Celuloză simplă
Celuloză — DEAE — T.L.C.* — Serva	Dietilaminoetil-celuloză (schimbător anionic)
Celuloză — ECTEOLA — T.L.C.* — Serva	Celuloză schimbător anionic (ECTEOLA)
Celuloză — PEI — T.L.C.* — Serva	Polietilenimin-celuloză (schimbător anionic)
Celuloză M.N.** — 300 și Celuloză M.N.** — 300 G	Fără liant, celuloză simplă, cu liant $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$
Celuloză M.N.** — 300 F*** și Celuloză M.N.** — 300 G.F.***	Celuloză cu indicator fluorescent. Cu liant $CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$ și indicator fluorescent
Celuloză M.N.** — 300 — HR Celuloză M.N.** — 300 — AC**** Celuloză M.N.** — 300 G/AC****	Celuloză special purificată Celuloză acetilată Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$) și acetilată
Celuloză M.N.** — 300 — CM și Celuloză M.N.** — 300 — CM.G	Carboximetil celuloză simplă. Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Celuloză M.N.** — 300 — P. și Celuloză M.N.** — 300 G/P	Celuloză fosforată. Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$) și fosforată.
Celuloză M.N.** — 300 — DEAE și Celuloză M.N.** — 300 G/DEAE	Dietilaminoetil-celuloză (schimbător anionic) Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Celuloză M.N.** — 300 — Ecteola și Celuloză M.N.** — 300 — G/ECTEOLA	Celuloză, schimbător anionic (ECTEOLA) Cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Celuloză M.N.** — 300 — PEI	Polietilenimin-celuloză (schimbător anionic)
Celuloză M.N.** — 300 — Poly-P.	Celuloză-polifosfat (schimbător anionic)

Observații: * T.L.C. — Thin-Layer Chromatography (C.S.S. v. cap. 1.3);
** M.N. — Macherey, Nagel și Co.;
*** F — Silicat de zinc activat;
**** Ac — Acetilată în proporție de 10%, 20% sau complet.

Scanned with OKEN Scanner

și cea de adsorbție, precum și cu proprietăți schimbătoare de ioni [50—53]. Datorită structurii fibroase a celulozei, este posibil să se lucreze fără liant.

Preparate comerciale de celuloză simplă și celuloză modificată utilizate în C.S.S. sînt prezentate în tabelul 8.

3.2.7. *Poliamide*

Poliamidele au fost folosite ca straturi cromatografice de către diferiți cercetători: Hörhammer și colab., Egger și Keil, Wang și Chon; Bark și Graham și alții [54—60], lucrările lui Bark, Hörhammer și Wagner [61] fiind în mod deosebit interesante pentru studiul comportării poliamidelor în C.S.S. Dintre poliamide, a fost studiat în deosebi nailonul-66, indicat pentru separarea compușilor fenolici. Ca structură este un polimer sintetic, obținut prin diferite procedee (polimerizarea lactamelor, policondensarea acizilor grași cu amine alifatice etc.). Lanțurile de polihexametilen-adipinamidă sînt întinse

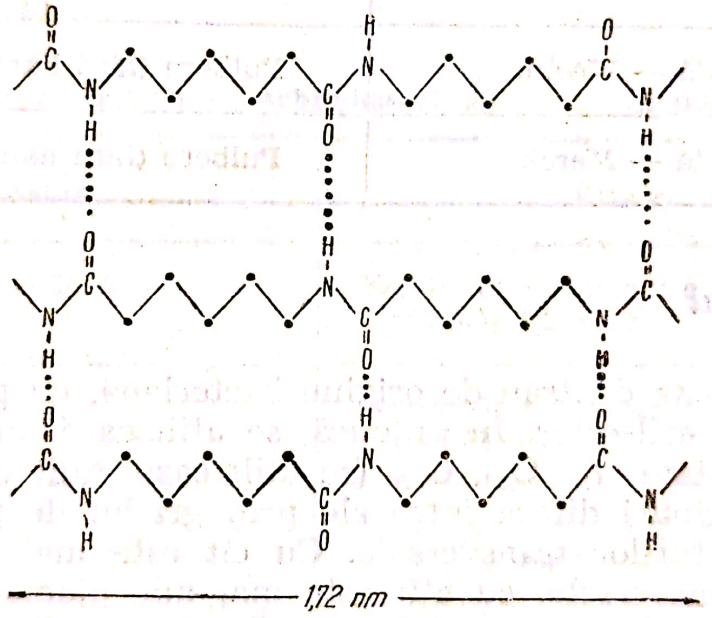


Fig. 8. Structura modificației α a nailonului —66.

la maximum și se găsesc în planuri paralele, spre deosebire de lanțurile formate numai din atomi de carbon, de exemplu ale polietilenei. Perioada de identitate este de 1,72 nm. Raportul între partea cristalină și partea amorfă nu este cunoscut din cauza prezenței diferitelor grade de ordonare și existenței a două forme cristaline. Grupele C=O și N—H ale poliamidei în interiorul polimerului sînt antrenate

în legături de hidrogen care leagă lanţurile între ele, iar cele de la suprafaţă rămîn libere şi joacă rol important în adsorbţia substanţelor de separat. În figura 8, este redată structura modificaţiei α a nailonului-66 [62]. Compuşii fenolici sînt relativ puternic adsorbiţi datorită legăturilor de hidrogen care se pot forma între fenol ca donor de protoni şi grupa C=O amidică, ca aceeptor. De asemenea, substanţe care au grupe acceptoare de protoni pot fi mai slab adsorbite prin formarea legăturilor de hidrogen cu grupa =N—H amidică, donoare (de exemplu esterii) [61, 63, 64].

Preparate comerciale de poliamide utilizate în C.S.S. sînt date în tabelul 9.

Tabelul 9

Principalele preparate de poliamidă utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Poliamidă M.N.	Pulbere (fără liant)
Poliamidă — Woelm	Pulbere (fără liant)
Poliamidă — Merck	Pulbere (fără liant)

3.2.8. *Sefadexul*

Sefadexul este dextran de origine bacteriană, cu punţi transversale de 1,3-gliceril-ester. În practică, se utilizează numeroase tipuri de sefadex, notate G_{10}, G_{20}, G_{200} (se utilizează mult ca site moleculare). Aceste tipuri diferă între ele prin gradul de polimerizare şi frecvenţa legăturilor transversale. Cu cît este mai mare numărul legăturilor transversale, cu atît este mai mic diametrul ochiurilor, respectiv al spaţiilor libere şi invers. Ca atare, utilizarea sa pentru substanţe cu masă moleculară mare sau mică va fi în acord cu diametrul ochiurilor [65—67].

Majoritatea preparatelor de sefadex se folosesc cu mai mult succes în cromatografia pe coloană şi mai puţin în C.S.S., unde se pot face mai degrabă încercări orientative pentru separările ulterioare pe coloană.

Preparate comerciale de sefadex pentru C.S.S. sînt prezentate în tabelul 10.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 10

Principalele preparate de sefadex utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Sefadex G — 25 Sefadex G — 50 Sefadex G — 75 Sefadex G — 100 Sefadex G — 200	Particule fine de dimensiuni 10—40 μm

3.2.9. *Răşini schimbătoare de ioni*

Ca şi în cazul sefadexului, majoritatea răşinilor schimbătoare de ioni se folosesc în scopuri preparative cît şi analitice pentru cromatografia pe coloană şi numai rareori pentru C.S.S. [1, 68, 69].

Preparate comerciale de schimbători de ioni pentru C.S.S. sînt date în tabelul 11.

Tabelul 11

Principalele preparate de schimbători de ioni, utilizate în C.S.S.

Denumirea	Caracteristici
Răşină AG 50. W — X. 8. — Bio Rad. Lab.	Schimbător cationic cu liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Răşină AG 1 — X. 8. — Bio Rad. Lab.	Schimbător anionic cu şi fără liant ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$)
Produs Z.P.1. — Bio Rad. Lab.	Fosfat de zirconiu (2—44 μm) cu liant (3% amidon)
Produs Z.M.1. — Bio Rad. Lab.	Molibdat de zirconiu (2—44 μm), cu liant (3% amidon)
Produs H.Z.O. — 1. — Bio Rad. Lab.	Oxid de zirconiu hidratat (2—44 μm) cu liant (3% amidon)
Produs A.M.P. — 1. — Bio Rad. Lab.	Molibdofosfat de amoniu (2—10 μm), cu liant (3% amidon)

Scanned with OKEN Scanner

3.2.10. *Plăci cromatografice gata preparate*

Cu cîţiva ani în urmă, diferite firme producătoare au început să furnizeze plăci cromatografice gata preparate cu diferiţi adsorbanţi, cu sau fără liant, cu indicatori fluorescenţi [70, 71] şi alte preparate speciale cu schimbători de ioni [72] sau foi din fibre de sticlă impregnate cu silicat de potasiu sau acid silicic [73].

Un produs recent introdus în practica C.S.S. sînt foile „Cromagram" produse de Distillation Products Industries. Stratul este format din silicagel şi alcool polivinilic, fixat pe un suport flexibil de polietilen-tereftalat, de diverse dimensiuni şi cu o grosime a stratului de 0,3 mm. Plăcile sînt standardizate: tipul K 301 R 2 — silicagel fără indicator fluorescent, tipul K 301 R — silicagel cu indicator fluorescent. Foile respective au o utilizare limitată faţă de agenţii corosivi.

3.3. Alegerea adsorbanţilor

Pentru alegerea adsorbanţilor se ţine seama, în primul rînd, de proprietăţile substanţelor de separat şi de structura lor chimică. Solubilitatea substanţelor este un indiciu important. Se poate con-

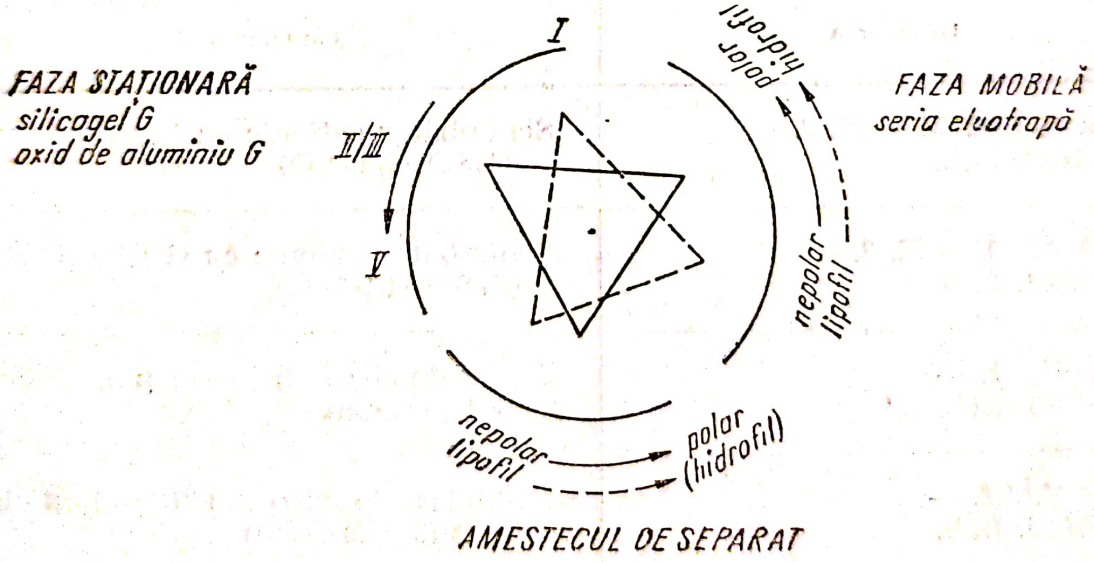


Fig. 9. Posibilitatea selecţiei adsorbanţilor şi a developanţilor în funcţie de proprietăţile amestecului de separat.

stata uşor dacă o substanţă este hidrofilă sau hidrofobă, dacă posedă proprietăţi bazice, acide sau neutre, sau dacă este amfoteră. De asemenea, se verifică dacă sînt posibile modificări chimice ale sub-

Scanned with OKEN Scanner

stanţelor de separat sub acţiunea adsorbantului sau a liantului. Aceste sumare indicaţii se corelează apoi cu proprietăţile şi structura adsorbanţilor şi se alege tipul de separare preferenţial: adsorbţie, repartiţie sau schimb ionic şi adsorbantul sau suportul cel mai potrivit pentru scopul propus. În general, se are în vedere ca legătura care se formează între substanţe şi adsorbant să fie reversibilă în prezenţa developantului, pentru ca substanţele să se poată repartiza între cele două faze.

Metoda empirică propusă de Stahl (fig. 9) [36] pentru alegerea adsorbanţilor cît şi a developanţilor prezintă, de asemenea, oarecare interes practic.

Numerele romane din fig. 9 se referă la activitatea adsorbantului. Triunghiul din mijloc se consideră că se roteşte în jurul centrului său de greutate. Dacă amestecul de separat este polar, slab polar sau nepolar se aşază unul din vîrfurile triunghiului în dreptul polarităţii corespunzătoare, iar celelalte două vîrfuri vor indica prin poziţia lor caracteristicile cerute pentru faza mobilă şi cea staţionară.

Bibliografie

1. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, Sec. Ed., New York, Academic Press, 1966, p. 11.
2. *Strain, H. H.* Chromatographic Adsorption Analysis, New York, Interscience, 1945, p. 50.
3. *Hesse, G.* Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium mit besonderer Berücksichtigung der chromatographischen Adsorptionsanalyse (Tswett-Analyse), Berlin, De Gruyter, 1943.
4. *Hesse, G., Daniel, J., Wohlleben,* G. Angew. Chemie, **64**, 1952, p. 105.
5. *Dougherty, M. T., Schepartz, I. A.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 415.
6. *Raaen, H. P.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 522.
7. *Hockey, J. A., Pethica, B. A.* Trans. Faraday Soc., **56**, 1962, p. 2017.
8. *Hockey, J. A., Ph. D. A.R.C.S.* Chem. and Ind., **9**, 1965, p. 57.
9. *Fripiat, J. J., Gastuche, M. C., Richard, R.* J. Phys. Chem., **66**, 1962, p. 805.
10. *Kiselev, A. V.* Zhur. Fiz. Khim., **35**, 1961, p. 111.
11. *Bartels, H.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 113.
12. *Spitz, H.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 384.
13. *Basila, M. R.* J. Chem. Phys., **35**, 1961, p. 1151.
14. *Aue, W. A., Hastings, C. R.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 319.
15. *Kiselev, A. V., Koutetski, Y. A., Clizkek, I.* Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R., **137**, 1961, p. 638.
16. *Halpaap, H., Klatyk, K.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 80.

Scanned with OKEN Scanner

17. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **25**, 1968, p. 274.
18. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 463.
19. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 388.
20. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **11**, 1963, p. 195.
21. *Heller, W.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 679.
22. *Ackermann, G., Frey, H. P.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 53.
23. *Iler, R. K., Ballard, C. C., Broje, E. C., John, D. S., Mc. Whorter, J. R.* J. Phys. Chem., **20**, 1961, p. 65.
24. *Dollimore, D., Heal, R. G.* Trans. Faraday Soc., **59**, 1963, p. 2386.
25. *Klein, P. D.* Anal. Chem., **33**, 1961, p. 1737.
26. *De Boer, J. H., Hermans, M. E. A., Vleeskens, J. M.* Proc. Kon. Ned. Skad. Van Wetens, **B. 60**, 1957, p. 45 și 234.
27. *Hĕrmanek, S., Schwarz, V., Cĕkan, Z.* Pharmazie, **16**, 1961, p. 566.
28. *Hĕrmanek, S., Schwarz, V., Cĕkan, Z.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., **28**, 1963, p. 2031.
29. *Hĕrmanek, S., Schwarz, V., Cĕkan, Z.* Collection. Czechoslov. Chem. Commun., **26**, 1961, p. 3170.
30. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **8**, 1962, p. 178.
31. *Snyder, L. R.* J. Phys. Chem., **67**, 1963, p. 240.
32. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 55.
33. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 344.
34. *Halpaap, H., Reich, W.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 70.
35. *Brockmann, H., Schrodder, H.* Chem. Ber., **74**, 1941, p. 73.
36. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ed. II, Heidelberg, Springer-Verlag, 1967.
37. *Wells, A. F.* Structural Inorganic Chemistry, Ed. III, Oxford, Clarendon Press, 1962, p. 464, 543, 780.
38. *Ripan, R., Ceteanu, I.* Chimia metalelor, vol. I., București, Editura didactică și pedagogică, 1967, p. 6, 89.
39. *Bye, G. C., Sing, K. S. W.* Chem. and Ind., **8**, 1965, p. 805.
40. *Lawrence, B. M., Hogg, J. W., Terhune, S. J.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 261.
41. *Brockmann, H.* Angew. Chem., **59**, 1947, p. 199.
42. *Stahl, E.* Chem. Ztg., **85**, 1961, p. 371.
43. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 300.
44. *Keefer, L. K.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 390.
45. *Wolfrom, M. L., de Lederkremer, R. M., Anderson, L. E.* Anal. Chem., **35**, 1963, p. 1357.
46. *Neniţescu, C. D.* Chimie organică, vol. II, ed. a VI-a, București, Editura didactică și pedagogică, 1968.
47. *Hais, I. M., Macek, K.* Cromatografia pe hîrtie, București, Editura Tehnică, 1960.
48. Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, ed. III, vol. 5, München-Berlin, Urban — Schwarzenberg, 1954, p. 156.
49. *Albu, C. D.* Relaţii între structura celulozei și comportarea sa faţă de unii coloranţi reactivi, Teză de doctorat, București, Facultatea de Chimie, 1968.
50. *Hammerschmidt, H., Mueller, M.* Papier, **17**, 1963, p. 448.
51. *Wieland, T., Lueben, G., Determann, H.* Experientia, **18**, 1962, p. 432.
52. *Heathcote, J. G., Haworth, C.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 84.

Scanned with OKEN Scanner

53. *Přistoupil, T. I., Kramlová, M., Šterbiková, J.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 367.
54. *Hörhammer, L., Wagner, H.* J. Chromatog., **13**, 1964, p. 235.
55. *Egger, K., Keil, M.* Z. Anal. Chem., **210**, 1965, p. 201.
56. *Bark, L. S., Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 109.
57. *Bark, L. S., Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 120.
58. *Wang, R. T., Chou, S. S.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 416.
59. *Wang, R. T., Chou, S. S.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 522.
60. *Nagasawa, K., Yoshidome, H, Takeshita, R.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 473.
61. *Wagner, H., Hörhammer, L., Macek, K.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 455.
62. Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Ed. III, vol. 7, München-Berlin, Urban — Schwarzenberg, 1956, p. 239, 322.
63. *Takeshita, R., Sakagami, Y., Itoh, N.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 269.
64. *Nagasawa, K., Yoshidome, H.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 282.
65. *Weiland, T., Determann, H.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 2.
66. *Dittmer, J. C.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 512.
67. *Brooks, C. J. W., Keates, R. A. B.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 509.
68. *Garel, J. P.* Bull. Soc. Chim. France, **3**, 1964, p. 653.
69. *Ionescu, Tudor.* Schimbători de ioni, ed. II-a București, Editura tehnică, 1964.
70. *Szokolay, A., Madavič, A.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 509.
71. *Graham. R. J. T., Nya, A. E.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 547.
72. *Berger, J. A., Meyniel, G., Petit, J.* Compt. Rend., **259**, 1964, p. 2231.
73. *Quesenberry, R. O., Donaldson, E. M., Ungar, F.* Steroids, **6**, 1965, p. 167.

4. Developanți (dizolvanți și amestecuri de dizolvanți) folosiți în cromatografia în strat subțire

4.1. Prezentare generală

În C.S.S. se utilizează o gamă variată de dizolvanți și amestecuri de dizolvanți. Astfel, de la apă, dizolvant puternic polar (constanta dielectrică $\varepsilon_{25}^{\circ} \simeq 81$ D) și pînă la hexan, dizolvant practic nepolar, se poate folosi tot șirul de dizolvanți clasificați de către diverși autori în serii eluotrope [1—3], precum și alții necuprinși în aceste clasificări.

Deoarece atît viteza de migrare a unei substanțe pe un adsorbant dat cît și rezoluția separării depind de developantul utilizat, develo-

Scanned with OKEN Scanner

panţii ca şi adsorbanţii trebuie să îndeplinească anumite condiţii. Acestea sînt:

a) Să realizeze valori R_f ale substanţelor de separat între limitele 0,05—0,9; diferenţa între valorile R_f a doi componenţi din proba de separat fiind de cel puţin 0,02—0,05.

b) Developantul trebuie să separe complet toate substanţele dintr-un amestec. În cazul amestecurilor necunoscute, e necesar ca numărul de componenţi separaţi cu ajutorul altor developanţi să fie mai mic sau cel mult egal cu numărul de componenţi separaţi cu ajutorul developantului considerat.

c) Developantul trebuie astfel ales încît izotermele de adsorbţie (absorbţie) ale substanţelor de separat, pe adsorbantul (absorbantul) folosit să fie liniare. În acest caz, zonele de substanţă apar simetrice, fără cozi. Astfel, forma petelor trebuie să fie cît mai regulată (rotundă sau dreptunghiulară, după cum s-a aplicat proba la start).

d) Developantul nu trebuie să producă transformări chimice ale substanţelor de separat. Între developant şi substanţele de separat trebuie să se stabilească doar legături slabe, reversibile, ca şi în cazul adsorbanţilor.

e) Developantul nu trebuie să reacţioneze cu reactivii de identificare, sau să reducă sensibilitatea substanţelor faţă de aceştia.

În cazul developanţilor, spre deosebire de adsorbanţi, structurile chimice ale dizolvanţilor componenţi, precum şi proprietăţile lor sînt bine cunoscute şi definite. Selecţia dizolvanţilor se efectuează în raport cu structura substanţelor de separat (v. Cap. 4.3).

4.2. Clasificarea dizolvanţilor în serii eluotrope

Pentru simplificarea selecţiei dizolvanţilor în determinările practice s-au stabilit serii în care dizolvanţii sînt clasificaţi în ordinea crescîndă a puterii lor de developare. Acestea sînt denumite serii *eluotrope,* prin analogie cu seria eluotropă stabilită de Trappe [2] pentru cromatografia pe coloană (tabelul 12) [4]. Aceste clasificări ale dizolvanţilor simpli şi ale amestecurilor de dizolvanţi în serii eluotrope sînt de mare ajutor în alegerea developanţilor potriviţi.

De cele mai multe ori dizolvanţii individuali nu pot realiza separarea diferitelor substanţe şi de aceea se folosesc ca developanţi amestecuri de doi, trei sau chiar patru dizolvanţi [5]. S-a constatat, de exemplu, că puterea de developare a eterului de petrol creşte treptat prin adăugarea unor cantităţi crescînde de benzen. La fel, puterea de developare a benzenului, în cazul adsorbanţilor polari,

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 12

Serii eluotrope

Seria eluotropă după G. Wehlleben	Seria eluotropă după H.H. Strain
Pentan	Eter de petrol (limite de fierbere 30—50°C)
Eter de petrol	Eter de petrol (limite de fierbere 50—70°C)
Hexan	Eter de petrol (limite de fierbere 70—100°C)
Heptan	Tetraclorură de carbon
Ciclohexan	Ciclohexan
Tetraclorură de carbon	Sulfură de carbon
Tricloretilenă	Eter etilic
Benzen	Acetonă
Diclormetan	Benzen
Cloroform	Toluen
Eter etilic	Esteri ai acizilor organici
Acetat de etil	Dicloretan, cloroform și diclormetan
Piridină	Alcooli
Acetonă	Apă
Alcool *n*-propilic	Acizi organici
Alcool etilic	Amestecuri de acizi cu baze, apă, alcooli sau piridină.
Alcool metilic	
Apă	

crește la adaos de etanol. În tabelul 13 este prezentată o serie eluotropă pentru amestecuri binare de dizolvanți [6, 7].

În unele cazuri, se mai poate adăuga sistemului de două componente un al treilea component. De obicei se adaugă acizi sau baze care suprimă sau favorizează disociația substanțelor cu grupe funcționale acide sau bazice, evitînd astfel formarea de cozi (care uneori se pot datora prezenței diferitelor trepte de ionizare). În același timp, bazele și acizii organici, ca și unii alcooli sau unele cetone miscibile cu apa, măresc solubilitatea apei în faza mobilă și prin aceasta caracterul hidrofil al developantului [8].

Comparînd aceste serii, se poate vedea că ele se deosebesc în unele cazuri prin ordinea dizolvanților. Așa, de exemplu, eterul are putere developantă mai mare după clasificarea lui Wohlleben comparativ cu cea a lui Strain și mult mai mare în clasificarea făcută de către Jaques și colab., Reichstein și colab. și Neher. Acest fapt se explică probabil prin diferența condițiilor experimentale (natura

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 13

Seria eluotropă pentru amestecuri binare

Seria eluotropă după Jaques şi colab., Reichstein şi colab, şi Neher	Raportul Volum/volum	Seria eluotropă după Jaques şi colab., Reichstein şi colab, şi Neher	Raportul Volum/volum
Benzen	—	Ciclohexan — acetat de etil	2 : 8
Benzen — cloroform	1 : 1	Acetat de etil	—
Cloroform	—	Cloroform — metanol	95 : 5
Ciclohexan — acetat de etil	8 : 2	Cloroform — acetonă	7 : 3
Cloroform — acetonă	95 : 5	Benzen — acetat de etil	3 : 7
Benzen — acetonă	9 : 1	Acetat de butil — metanol	99 : 1
Benzen — acetat de etil	8 : 2	Benzen — eter etilic	1 : 9
Cloroform — eter etilic	9 : 1	Eter — metanol	99 : 1
Benzen — metanol	95 : 5	Eter	—
Benzen — eter etilic	6 : 4	Eter — dimetilformamidă	99 : 1
Ciclohexan — acetat de etil	1 : 1	Acetat de etil — metanol	99 : 1
Cloroform — eter etilic	8 : 2	Benzen — acetonă	1 : 1
Benzen — acetonă	8 : 2	Cloroform — metanol	9 : 1
Cloroform — metanol	99 : 1	Dioxan	—
Benzen — metanol	9 : 1	Acetonă	—
Cloroform — acetonă	85 : 15	Metanol	—
Benzen — eter etilic	4 : 6	Dioxan — apă	9 : 1
Benzen — acetat de etil	1 : 1		
Cloroform — eter etilic	6 : 4		

straturilor, gradul de activare al adsorbanţilor, temperatură etc.). În primul rînd, trebuie avut în vedere faptul că puterea de separare a unui dizolvant sau a unui amestec de dizolvanţi rezultă din interacţiunile între adsorbant, substanţă şi developant [8]. Din această cauză, este foarte greu de stabilit o serie pentru dizolvanţi, unică, cu valabilitate generală.

Interesantă este şi clasificarea făcută de Macek şi Prochàska [9] bazată pe capacitatea dizolvanţilor de a forma legături de hidrogen. În cromatografia în strat subţire, legătura de hidrogen este una din principalele tipuri de legături care intervin atît în separările prin repartiţie lichid — lichid cît şi prin adsorbţie. Ca atare, o asemenea clasificare este avantajoasă pentru selectarea dizolvanţilor, atunci cînd substanţele de separat pot forma astfel de legături cu faza mobilă şi cu cea staţionară (tabelul 14).

La începutul seriei se află dizolvanţi care sînt donori şi acceptori de hidrogen, putînd să formeze legături de hidrogen foarte stabile (dizolvanţi hidrofili, denumiţi în general dizolvanţi polari). La sfîrşi-

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 14

Seria eluotropă dată de Macek și Procháska

Denumirea	Solubilitatea apei la 100 ml dizolvant*, vol./vol,	Constanta dielectrică, ε, la temperatura camerei, D
Apă		81,1
Acid lactic		23
Formamidă		84
Morfolină		
Acid formic		58,5
Acetonitril		38,8
Alcool metilic		31,2
Acid acetic		6,3
Alcool etilic		25,8
Alcool izopropilic		26,0
Acetonă		21,5
Alcool *n*-propilic		22,2
Dioxan		3
Acid propionic		3,15
Tetrahidrofuran		
Alcool *terț*-butilic		
Acid izobutiric	20	2,6
Alcool izobutiric	12,5	
Metil-etil-cetonă	$35,3^{10}$	18
Ciclohexanonă	$2,4^{31}$	18,2
Fenol	$6,7^{16}$	9,7
Alcool *terț*-amilic		
Alcool *n*-butiric	7,9	19,2
m-Crezol	2,4	
Ciclohexanol	$5,7^{15}$	15
Alcool izoamilic	$2,7^{22}$	
Alcool *n*-amilic	$2,7^{22}$	16
Alcool benzilic	4^{17}	13
Acetat de etil	8,6	6,1
Alcool *n*-hexilic	0,6	
Colidină	3,5	
Acid valerianic	$3,7^{16}$	
Formiat de etil	$11,8^{25}$	
Acid izovalerianic	4,2	
Furan		
Eter etilic	7,5	4,4
Alcool *n*-octilic		
Dietoximetan		
Acid capronic	0,4	
Acetat de butil	$0,5^{25}$	5
Diizopropoxi-metan		
Dipropoxi-metan		
Nitro-metan		39

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 14 (continuare)

Denumirea	Solubilitatea apei la 100 ml dizolvant*, vol./vol.	Constanta dielectrică, ε la temperatura camerei, D
Bromură de *n*-butil	0,2	
Eter izopropilic		
Butirat de *n*-butil		
Bromură de *n*-propil	0,3	
Eter *n*-butilic		
Clorură de metilen	2	
Cloroform	1^{15}	5,1
Eter izoamilic		
Clorură de etilen	0,6	
Brom-benzen	$0,05^{30}$	5,4
Triclor-etan		
Bromură de etilenă		
Bromură de etil	0,9	
Benzen	$0,08^{22}$	2,24
Clorură de propil	0,27	
Triclor-etenă	0,1	
Toluen	$0,05^{16}$	2,3
Xilen		2,6
Tetraclorură de carbon	0,08	2,25
Sulfură de carbon		2,6
Decalină		2,13
Ciclopentan		
Ciclohexan		2,1
Hexan	$0,01^{15}$	1,88
Heptan	$0,005^{15}$	1,97
Petrol lampant		
Ulei de parafină		

*) Dacă nu există nici o altă indicație, valorile arată solubilitatea la 20° C.

tul seriei se găsesc dizolvanți care nu prezintă aceste proprietăți (dizolvanți hidrofobi sau lipofili, denumiți dizolvanți nepolari). Între aceste două grupe sînt dizolvanții cu caracter semihidrofil (considerați semipolari) [9]. Primii dizolvanți, de la apă pînă la alcoolul *terț*-butilic, sînt miscibili cu apa în orice proporție, ceilalți au o miscibilitate limitată și formează cu apa două straturi [10—12].

Stahl [12], prezintă o serie eluotropă similară, în care capacitatea developantă crește cu polaritatea dizolvantului. Drept punct de plecare pentru polaritate se folosește nu numai constanta dielectrică ci și compararea valorilor tensiunilor superficiale limită față de apă. De asemenea, datorită faptului că viteza de migrare a unui develo-

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 15

Seria eluotropă dată de Stahl

Denumirea	Temperatura de fierbere (la 760 torr)/°C	Constanta dielectrică ($\varepsilon_{20°C}$) D	Tensiunea superficială limită față de apă (la 20°C) dyn/cm	Viscozitatea (la 20 C) cP
n-Hexan	68,7	1,890	51,1	0,326
Heptan	98,4	1,924	$50,4^{25°}$	0,409
Ciclohexan	81,4	2,023	—	1,02
Tetraclorură de carbon	76,8	2,238	45,1	0,969
Benzen	80,1	2,284	35,0	0,652
Cloroform	61,3	4,806	27,7	0,580
Eter etilic	34,6	4,34	9,7	0,233
Acetat de etil	77,1	$6.02^{25°}$	$6,3^{30°}$	0.455
Piridină	115,3	$12\,3^{25°}$	—	0,974
Acetonă	56,5	$20,7^{25°}$	miscibil cu apă	$0,316^{0,25}$
Etanol	78,5	$24,30^{25°}$	idem	1,2
Metanol	64,6	33,62	idem	0,597
Apă	100	80,37	—	1,005

pant este dependentă, printre altele, și de viscozitatea sa, alături de celelalte constante, s-a trecut și viscozitatea în centipoise (tabelul 15).

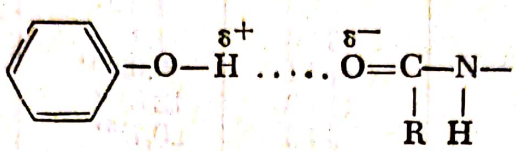
Urmărind în tabelul 15 creșterea polarității dizolvanților de sus în jos, se constată un paralelism mai bun între valorile tensiunii superficiale limită față de apă decît între valorile constantelor dielectrice. Totodată, compararea mai multor constante fizice reprezintă o confirmare a corectitudinii ordinii de aranjare a principalilor dizolvanți în funcție de polaritatea crescîndă.

4.2.1. *Semnificația termenului polar în cromatografia în strat subțire*

În cromatografia în strat subțire, ca de altfel și în celelalte metode cromatografice, se operează frecvent cu noțiunea de polar și opusul ei, nepolar, nu numai pentru faza mobilă (dizolvanți și amestecuri de dizolvanți) ci și pentru substanțele de separat și faza staționară (lichidă sau solidă). De aceea, este necesară precizarea sensului cromatografic al acestei noțiuni. Noțiunea de polar se utilizează în cromatografia în strat subțire cînd se referă la o legătură, la o moleculă sau la o fază [13, 14].

Scanned with OKEN Scanner

Printr-o legătură polară (interacțiune polară) se înțelege o legătură care prezintă o disimetrie a centrelor de sarcină electrică, astfel încît în această categorie pot fi incluse legăturile datorate interacțiunilor ion — dipol, interacțiunilor de orientare dipol — dipol, interacțiunilor de inducție dipol — dipol indus, legătura de hidrogen și legăturile din complecși cu transfer de sarcină (complecși donor — acceptor) [15—18]. În cromatografia în strat subțire, majoritatea legăturilor care intervin între substanțele de separat și cele două faze (mobilă și staționară), sînt legături de acest tip, adică legături polare [5, 19—22]. Ca exemplu poate fi amintită adsorbția compușilor fenolici pe poliamidă, care se datorește formării legăturilor de hidrogen reversibile, între atomul de hidrogen al grupei fenolice și grupa C=O amidică [19—20]:



O moleculă polară este o moleculă care are moment de dipol permanent (de exemplu 1,2-dinitrobenzenul, 1,3-dinitrobenzenul, 1,2-diclorbenzenul etc.) Ca sens cromatografic noțiunea de moleculă polară este extinsă și asupra moleculelor care din cauza simetriei lor nu au un moment de dipol permanent, dar care au grupe polare. Dacă aceste grupe sînt cele care domină în interacțiunile cu cele două faze, respectiv formează legături polare de tipul amintit, generalizarea noțiunii este justificată.

Astfel, 1,4-diclorbenzenul (fără moment de dipol permanent) este adsorbit puternic pe suprafața polară a oxidului de aluminiu. În același timp, 1,3-diclorbenzenul (cu moment de dipol permanent) este mai slab adsorbit pe același adsorbant și în aceleași condiții [21] (comportarea izomerului 1,3-diclorbenzen poate fi explicată în acest caz prin considerații de natură sterică) [23—25]. În C.S.S. se consideră o moleculă mai polară decît alta, aceea care este mai puternic reținută pe o suprafață adsorbantă (absorbantă) polară. De exemplu, la separarea unui amestec de substanțe folosind ca adsorbant silicagelul și ca developant benzenul, se consideră ca fiind mai polară substanța cu valoarea R_f cea mai mică (silicagelul fiind mai polar decît benzenul). Dacă, din contră, se folosește o fază mobilă mai polară decît silicagelul, va fi considerată mai polară substanța cu valoarea R_f cea mai mare [19, 20, 26]. Polaritatea moleculei supuse cromatografierii este apreciată în raport cu polaritatea fazelor în contact și cu tăria interacțiunilor polare reversibile care se realizează cu aceste faze.

Scanned with OKEN Scanner

Denumirea de fază polară sau nepolară se referă la interacțiunea dominantă dintre moleculele fazei respective. Dacă moleculele unei faze conțin atît grupe polare ($\mu \neq 0$) cît și grupe nepolare ($\mu = 0$), în cazul cînd domină interacțiunile polare, faza se numește polară, iar în cazul opus este vorba de o fază nepolară. De exemplu, alcoolul etilic este o fază polară respectiv un developant polar, în timp ce eterul etilic este un developant nepolar sau foarte slab polar [27]. De asemenea, stratul de silicagel obișnuit este o fază polară datorită grupelor —OH slab acide ale suprafeței, la fel poliamida etc. Între fazele polare și nepolare, există o gradație continuă a polarității, diferențierea putîndu-se face prin constanta dielectrică, mare în primul caz și mică în ultimul caz. De asemenea, energia interacțiunilor dominante în faza polară este mai mare decît cea din fazele nepolare, de unde rezultă temperaturi de fierbere ridicate în primul caz și joase în ultimul caz. Fazele polare lichide sînt miscibile cu apa în orice proporție sau limitat cu scăderea polarității, în timp ce fazele nepolare sînt practic nemiscibile cu apa sau foarte puțin miscibile. Pentru faza polară se obișnuiesc și denumirile de *fază apoasă* sau *hidrofilă*, iar pentru faza nepolară denumirile de *fază organică* sau *lipofilă* (hidrofobă). Ambele denumiri își au originea în observațiile practice asupra comportării acestor faze [14]. Determinarea polarității unei faze pentru scopurile cerute în C.S.S. se poate efectua prin compararea retenției, r, a unei substanțe etalon în această fază cu retențiile, r_0 și r_1, ale aceleiași substanțe într-o fază polară (apă) și una nepolară (n-hexan). Polaritatea, P, a fazei cercetate se poate defini prin raportul:

$$P = \frac{\lg \frac{r_1}{r}}{\lg \frac{r_1}{r_0}}$$

Această mărime variază între zero (în cazul nepolar extrem $r = r_1$) și unu (în cazul polar extrem $r = r_0$).

4.3. Alegerea developanților (dizolvanți și amestecuri de dizolvanți) pentru separarea substanțelor

Unul din cele mai complicate aspecte ale practicii cromatografiei în strat subțire, îl constituie alegerea developantului. Pentru aceasta nu se poate proceda numai empiric, experimentînd toți dizol-

Scanned with OKEN Scanner

venţii pe principiul probabilităţii, ci e nevoie de o alegere preferenţială pe baza unor cunoştinţe teoretice asupra procesului de separare. Trebuie să se cunoască cel puţin principiile generale ale cromotografiei în strat subţire, noţiuni asupra adsorbţiei substanţelor, a repartiţiei acestora între cele două faze, relaţiile între valorile R_f şi coeficienţii de repartiţie şi în special tipurile de interacţiuni posibile ale substanţei de separat cu cele două faze. [19—25, 28]. Solubilitatea unei substanţe într-un anumit dizolvant sau adsorbţia sa pe un adsorbant specificat poate fi uneori estimată pe baza activităţii interacţiunii grupelor funcţionale ale substanţelor cu moleculele dizolvantului sau adsorbantului [28].

Alegerea developanţilor depinde, în primul rînd, de structura şi proprietăţile substanţelor de separat după care se pot împărţi în următoarele clase:

— Substanţe de separat care conţin grupe puternic polare (hidrofile) ca: —OH, —COOH, —NH_2, —$CONH_2$, —CHO, —SO_3H;

— Substanţe de separat care conţin grupe semipolare (semihidrofile) ca: $\rangle C=O$, R_2O, —NR_3, —NO_2, —$C\equiv N$, —COOR;

— Substanţe de separat care conţin grupe nepolare (hidrofobe) ca: radicalul —CH_3, grupa metilenică (cu increment omolog) şi cicluri aromatice care se comportă aproximativ la fel ca o catenă cu patru grupe —CH_2 — în cazul repartiţiei lichid — lichid şi diferit la adsorbţia pe supafaţa adsorbanţilor;

— Substanţa de separat poate conţine grupe mixte din tipurile prezentate (cazul cel mai frecvent) [28].

Dacă faza staţionară aleasă este polară (silicagel, poliamidă, oxid de magneziu hidratat etc., sau în cazul fazelor staţionare lichide: apă, formamidă, propandiol etc.), grupele polare dintr-o moleculă vor micşora valorile R_f ale componenţilor respectivi, iar grupele nepolare le vor mări. Cu o oarecare aproximaţie se poate spune că în cazul C.S.S. de repartiţie (lichid—lichid) micşorarea valorii R_f datorită unei grupe puternic polare este echivalentă cu creşterea valorii R_f datorită prezenţei a 2—4 grupe — CH_2.

Micşorarea valorii R_f datorită unei grupe semipolare echivalează cu creşterea determinată de 1—2 grupe —CH_2. [9, 28, 29]. În cazul prezenţei grupelor mixte, pe baza însumării aproximative a efectelor date de grupele polare şi nepolare, se va alege din seriile eluotrope tipul de developant indicat. Dacă predomină grupele polare, se va alege un developant polar; din contră, dacă predomină grupele nepolare, se utilizează un adsorbant puternic activat (oxid de aluminiu gradul II—III) şi un developant slab polar (nepolar), sau faze inverse, dacă faza staţionară este lichidă. [30]. În

Scanned with OKEN Scanner

cromatografia în strat subțire de repartiție, pe straturi de celuloză sau kieselgur, talc etc., dacă substanța de separat prezintă grupe hidrofile și hidrofobe în egală măsură, se va alege o fază staționară puternic polară ca formamidă sau 1,3-propandiol, iar faza mobilă se va alege astfel încît echilibrul substanțelor de separat între faze să fie deplasat în favoarea fazei staționare (adică solubilitate mai mare în faza staționară) [12, 30].

Alegerea developanților trebuie corelată și cu forma izotermelor de adsorbție. Dacă din încercările făcute după criteriile arătate substanța de separat rămîne totuși pe linia de start (adică izoterma de adsorbție se suprapune peste ordonată, v. Cap. 2, fig. 3), se folosește o fază staționară cu polaritate mai mică sau, se crește polaritatea fazei mobile. Dacă în alegerea developanților polari s-a ajuns pînă la alcool butilic și substanța rămîne pe linia de start, se vor alege developanți miscibili cu apa, crescînd treptat polaritatea prin adaos de apă sau alcooli inferiori, acizi, baze etc. [31, 36]. Invers, dacă substanța de separat migrează în frontul developantului (adică izoterma de adsorbție se suprapune peste abscisă, v. Cap. 2, fig. 3), va crește polaritatea adsorbantului sau a fazei staționare lichide, sau ca fază mobilă se alege un developant în care solubilitatea substanței să fie mai mică, adică se alege un developant foarte slab polar. Adaosul de acizi micșorează viteza de migrare a bazelor și invers, adaosul de baze micșorează viteza de migrare a acizilor. Dacă două substanțe se deosebesc numai printr-o grupă semipolară, de exemplu $\rangle C=O$, ele se vor separa mai bine în developanți foarte slab polari.

Folosind corect clasificarea dizolvanților în serii eluotrope, este posibil ca dintr-un număr mic de încercări să se găsească condițiile cele mai bune pentru separare [5, 37—40].

Dacă nu se cunoaște formula structurală a substanțelor de separat, ci numai formula brută, se vor face încercări de solubilitate ale substanțelor și se va ține seama de proprietățile lor hidrofile sau hidrofobe, de raportul între C și O, între C și N [9, 19, 20]. Dacă substanța conține numai C și O, la valori ale raportului $C/O \simeq 1 \ldots 5$, se vor alege developanți polari la valori mai mari $C/O \simeq 5 \ldots 15$, se vor alege developanți semipolari, iar la valori peste această limită se recomandă cromatografia în strat subțire de repartiție cu faze inverse [9].

Dacă substanțele conțin C, O și N, solubilitatea lor în diferiți dizolvanți poate servi pentru orientare. În cazul substanțelor hidrofile, un atom de azot se manifestă aproximativ asemănător cu doi atomi de oxigen, iar la substanțele hidrofobe cu heteroatom de

Scanned with OKEN Scanner

azot, sau cu un azot terţiar, un atom de azot se manifestă aproximativ la fel cu un atom de oxigen. În ambele cazuri se recomandă developanţi cu adaos de baze sau acizi [26].

Dacă nu se cunoaşte nimic despre structura chimică a substanţei, se fac tatonări de solubilitate şi o testare orientativă a comportării cromatografice prin metoda empirică propusă de Stahl [12] şi Randerath [4], denumită *tehnica microcirculară de alegere a dizolvanţilor*. În acest scop, se aplică pe o placă cromatografică cu silicagel sau oxid de aluminiu (de obicei de dimensiuni mici, circa 3×7 cm) soluţia substanţelor de analizat în mai multe puncte, la distanţă de 2—3 cm între ele. Aplicarea soluţiei se face cu micropipeta sau cu un tub capilar, în cantitate ceva mai mare (20—50 μg) ca să se poată observa uşor antrenarea substanţelor din centrul petei spre periferie. Suprafaţa petei în punctul de aplicare se recomandă să fie cît mai mică, pentru ca zona de substanţe să fie cît

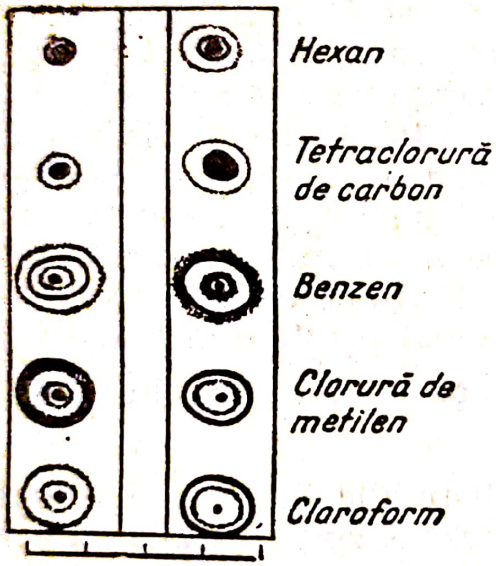


Fig. 10. Tehnica microcirculară de alegere a developanţilor.

mai concentrată. Pentru aceasta, volumul picăturilor trebuie să fie foarte mic, iar dizolvantul purtător trebuie evaporat cît mai repede prin suflare de aer cald sau rece (avînd în vedere temperatura de fierbere a dizolvantului respectiv). În continuare, se aşază în centrul fiecărei pete cîte un tub capilar umplut cu developanţi aleşi din seriile eluotrope. Developantul scurs din tubul capilar, difuzează circular şi separă, dacă este potrivit, substanţele din amestec în zone dispuse sub forma unor cercuri concentrice. În funcţie de rezultatele obţinute, se încearcă developanţi cu putere crescîndă de separare (fig. 10).

Metoda poate fi folosită nu numai în cazul substanţelor necunoscute ci şi la alegerea developanţilor pentru substanţele cunoscute folosind criteriile indicate mai sus.

Scanned with OKEN Scanner

În general, pentru cercetarea influenței developanților asupra comportării cromatografice a substanțelor și pentru alegerea developanților potriviți, se pleacă de la premisa că viteza de deplasare a substanțelor în timpul cromatografierii depinde de forțele prin care substanțele respective se leagă atît de adsorbant, cît și de developant. [5, 7, 25]. Această complexitate a procesului trebuie avută în vedere mereu, atît la alegerea condițiilor de lucru, cît și la interpretarea rezultatelor.

Referitor la alegerea developanților, trebuie precizat că se folosesc numai dizolvanți de puritate avansată. De asemenea, reutilizarea unui developant o dată folosit se face numai cu oarecari rezerve deoarece compoziția sa inițială se schimbă prin adsorbția și evaporarea inegală a componentelor. Totodată, trebuie avut în vedere că uneori componentele pot reacționa între ele, iar eterul și cloroformul conțin 0,5—1% etanol, drept stabilizator.

Bibliografie

1. *Wohlleben, G.* In: Handbuch der Lebensmittelchemie, vol. II, Partea I-a, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer-Verlag, 1965.
2. *Trappe, W,* Biochem. Z., **305**, 1940, p. 150 și **306**, 1940, p. 316.
3. *Strain, H. H.* Chromatographic Adsorption Analysis, New York, Interscience Publ. Inc., 1942, p. 658.
4. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, ed. a II-a, New York, Academic Press, 1966, p. 14.
5. *Soezewinski, E., Golkiewicz, W., Szumilo, H.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 1.
6. *Garel, J. P.* Bull. Soc. Chim. France, **3**, 1964, p. 653.
7. *Hĕrmanek, S., Schwarz, V., Čekan, Z.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., **28**, 1963, p. 2031.
8. *Waksmundzki, A., Rozylo, J.* Chem. Anal., **13**, 1968, p. 1041.
9. *Hais, I. M., Macĕk, K.* Cromatografia pe hîrtie, București, Editura tehnică, 1960, p. 112.
10. *Marini Bettola, G. B.* Thin-Layer Chromatography, Amsterdam, Elsevier, 1964, p. 60.
11. *Lederer, E.* Chromatographie en Chimie Organique et Biologique, Paris, Ed. Masson et C-ie, 1959, p. 55.
12. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumshandbuch, ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967, p. 199.
13. *Piringer, O., Tătaru, E.* Cromatografia în fază gazoasă, București, Editura tehnică, 1969, p. 96.
14. *Cassidy, H. G.* Fundamentals of Chromatographie, In: Technique of Organic Chemistry, vol. X, editor Weissberger, A. New York, Interscience, 1957, p. 26.
15. *Cădariu, I.* Chimie fizică, vol. I, București, Editura tehnică, 1967, p. 318.
16. *Nenițescu, C. D.,* Tratat elementar de chimie organică, ed. a VI-a, București, Editura didactică și pedagogică, 1966, p. 42.

Scanned with OKEN Scanner

17. *Bîrcă-Gălăţeanu, D., Giurgea, M., Jora, I., Sahini, V., Truţea, A., Ţiţeica, R* Introducere în spectroscopia experimentală, Bucureşti, Editura tehnică, 1966, p. 289.
18. *Angelescu, E., Cornea, F.* Probleme teoretice de chimie organică, Bucureşti, Editura didactică şi pedagogică, 1969, p. 27.
19. *Bark, L. S., Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 109.
20. *Bark, L. S., Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 131.
21. *Snyder, L. R.* J. Chromatog. 8, 1962, p. 178.
28. *Přistoupil, T. I., Kramlová, M., Štirliková, J.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 367.
23. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **67**, 1963, p. 234.
24. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 463.
25. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 388.
26. *Neuhäuser, S., Wohl, F.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 53.
27. *Hildebrand, J. H., Rotariu, G. J.* Anal. Chem., **24**, 1952, p. 770.
28. *Bieganowska, M., Soczewinski, E., Bieganowska, St.,* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 121.
29. *Pataki, G.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 327.
30. *Kinze, W.* Phar. Zentralhalle, **103**, 1964, p. 714.
31. *Martin, A. Y. P.* Ann. Review Biochem., **19**, 1950, p. 517.
32. *Samuels, S.* J. Chem. Educ., **43**, 1966, p. 145.
33. *Waksmundzki, A.* Chem. Anal., **2**, 1966, p. 101.
34. *Weiland, T., Determann, H.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 2.
35. *Pelloni-Tamaş, V.,* Cromatografia în strat subţire, Referat, Catedra de Chimie organică, Facultatea de chimie, Bucureşti, 1968.
36. *Iohan, F., Zaharia, M.* Rev. de Chimie, **14**, 1963, p. 682.
37. *Pelloni-Tamaş, V., Simionovici, R., Mihalaş, E., Aftalion, H.,* Conferinţa Republicană de Chimie analitică, Constanţa, Sept. 1969.
38. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 1.
39. *Snyder, L. R., Fett, R. E.* J. Chromatog., **18**, 1965, p. 461.
40. *Sawicki, E.* Chem. Anal., **53**, 1964, p. 24, 56, 88.

5. Aspecte privind relaţia între structura chimică a substanţelor şi comportarea lor cromatografică

5.1. Prezentare generală

Aşa cum s-a mai arătat, separarea substanţelor se datoreşte repartiţiei lor diferite între cele două faze, deplasarea longitudinală (de-a lungul fazei staţionare) avînd loc prin antrenarea lor de către

Scanned with OKEN Scanner

faza mobilă. Diferența între vitezele de migrare ale diferitelor substanțe dintr-un amestec, în același sistem cromatografic, se datorește particularităților lor structurale care conduc la diferențe între valorile coeficienților de adsorbție și de repartiție. Aceste particularități structurale adeseori constînd în diferențe foarte mici (substanțele diferind printr-o dublă legătură, o grupă polară, poziția diferită a unei duble legături, ecranarea sterică a unei grupe polare sau a unei duble legături etc.) duc la interacțiuni și energii de legătură diferite cu cele două faze. De aici, diferențele între coeficienții de adsorbție și repartiție și ca urmare între vitezele de migrare (R_f).

În general, din cauza varietății foarte mari a structurii substanțelor de separat, a dizolvanților folosiți ca developanți și a adsorbanților, interacțiunile care au loc între substanțe și cele două faze sînt complicate și foarte variate. Așa se explică imposibilitatea stabilirii unor condiții de separare cu valabilitate generală. Există totuși în prezent suficiente date experimentale și teoretice care pot să dea indicații generale asupra relației între structura chimică a substanțelor și comportarea lor cromatografică [1—25]. Ca urmare, există posibilitatea stabilirii condițiilor de separare potrivite și a interpretării comportării substanțelor într-un anumit sistem cromatografic, adsorbant (absorbant) — developant.

Din studiile efectuate de numeroși cercetători [1—25], se presupune că în procesul de separare prin C.S.S. substanțele interacționează cu cele două faze prin următoarele tipuri de interacțiuni:

— Legături de hidrogen (în cazul substanțelor care conțin grupe capabile de a forma astfel de legături).

— Adsorbția preferențială a acizilor pe oxid de aluminiu bazic și a bazelor pe silicagel prin ionizare.

— Interacțiuni de tip dipolar și multipolar.

— Interacțiuni prin formare de complecși donor-acceptor (întîlnite în special în cazul oxidului de aluminiu, la separarea substanțelor cu grupe care au dublete electronice neparticipante).

— Interacțiuni prin formare de complecși π.

— Forțe de dispersie (caracterizate prin energie foarte mică și rază de acțiune redusă).

Deseori, în cazul aceleiași substanțe acționează mai multe tipuri de interacțiuni. De exemplu, o substanță polară este atrasă cu polul negativ spre suprafața silicagelului, aceasta fiind pozitivă. Dacă substanța conține un atom capabil de a forma o legătură de hidrogen cu protonul grupe —OH a silicagelului, peste interacțiunea

Scanned with OKEN Scanner

dipolară se suprapune și o legătură de hidrogen. În general, domină acel tip de legătură posibilă, care are energia de interacțiune cea mai mare [1].

5.1.1. *Legături de hidrogen*

Prezența și importanța acestei legături în separările cromatografice au putut fi estimate pe baza datelor spectrale [12]. Formarea legăturilor de hidrogen este posibilă în cazul separărilor cromatografice pe adsorbanți ca: silicagelul datorită structurii suprafeței acestuia cu grupe OH libere (v. Cap. 3, fig. 6); poliamida care poate să funcționeze atît ca aceptor de protoni, preferențial, cît și ca donor (v. Cap. 3, fig. 8); oxidul de aluminiu cu un anumit conținut de grupe OH; oxidul de magneziu etc. Legăturile de hidrogen joacă un rol important și în cazul folosirii fazelor staționare lichide ca apă, alcooli etc. și al anumitor developanți [26]. Astfel, rezultă că o substanță va fi cu atît mai repede transportată de un developant (R_f crește) cu cît legătura de hidrogen între substanță și developant este mai puternică. De asemenea, o substanță va fi cu atît mai mult adsorbită (R_f scade) cu cît energia legăturii de hidrogen între aceasta și adsorbant este mai mare. De exemplu, dacă se studiază separarea celor doi aminoacizi — prolina și valina — în mai mulți dizolvanți: fenol (predominant donor de protoni); colidina (predominant acceptor de protoni) și alcool *n*-butilic (donor de protoni mai slab decît fenolul), faza staționară fiind formată din pulbere de celuloză cu un anumit conținut de apă, se observă următoarea ordine a vitezelor de migrare.

Prolina, a cărei grupă imino este un acceptor de protoni mai pronunțat decît grupa amină primară a valinei, migrează cu viteză mai mare decît valina în fenol, iar în colidină și alcool *n*-butilic, prolina migrează cu viteze mai mici decît valina [17].

Se știe că legătura de hidrogen apare în urma interacțiunii atomului de hidrogen dintr-o legătură puternic polară, cu un atom electronegativ dintr-o altă moleculă sau din aceeași moleculă. Se formează prin întrepătrunderea orbitalilor corespunzători electronilor neparticipanți ai atomului electronegativ (O, N) cu orbitalul δ corespunzător legăturii polare. Energia legăturii de hidrogen variază între 4 și 8 kcal/mol [27—31]. Din punct de vedere al posibilității formării legăturilor de hidrogen, Hecker [26] împarte substanțele în 5 grupe:

a) Substanțe donoare de hidrogen: substanțe care conțin în molecula lor un atom de hidrogen acid și pot forma cu bazele

(substanţe care au o pereche de electroni neparticipanţi) o punte de hidrogen (de exemplu: cloroform, diclormetan, 1,2-dicloretan etc., tăria de donor scăzînd treptat, în această serie).

b) Substanţe acceptoare de hidrogen: substanţe cu o pereche de electroni neparticipanţi (de exemplu: eteri, cetone > esteri; compuşi nitro şi amine terţiare > hidrazine alchilate > azoderivaţi > nitrili fără atom de hidrogen în poziţia-α ⟩⟩⟩ hidrocarburi aromatice).

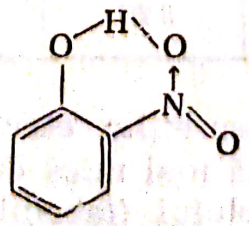
c) Substanţe cu dublu caracter, donor şi acceptor (de exemplu substanţele conţinînd grupe — OH sau NH_2; acizi, fenoli > oxime > alcooli; imide > amide ⟩⟩⟩ derivaţi de hidrazină, amine primare şi secundare).

d) Substanţe care conţin cel puţin două din grupele menţionate mai sus, la distanţă destul de mare una de alta, (de exemplu: acizi dicarboxilici, dioli, diamine, aminoalcooli etc.). Aceste substanţe pot să formeze între ele reţele spaţiale puternice prin punţi de hidrogen intermoleculare.

e) Substanţe neutre, care nu dau naştere la legături de hidrogen, (de exemplu: sulfura de carbon > tetraclorura de carbon > ciclohexanul > hidrocarburile alifatice).

Legătura de hidrogen este cu atît mai puternică cu cît atomul de hidrogen în molecula donoare este legat mai labil şi cu cît densitatea de electroni la perechea de electroni neparticipanţi ai moleculei acceptoare este mai mare.

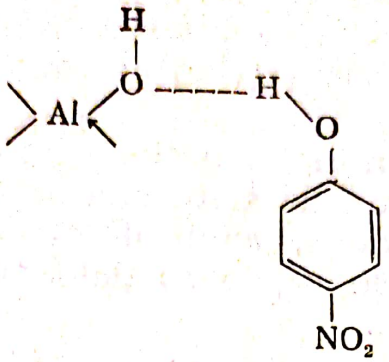
Hĕrmanek şi colab. [16] au studiat formarea legăturilor de hidrogen la separarea prin C.S.S. a nitrofenolilor folosind ca adsorbant oxidul de aluminiu bazic. Ordinea de migrare a izomerilor: *orto*-; *meta*- şi *para*-nitrofenol, în developanţi slabi acceptori de protoni ar trebui să respecte ordinea scăderii acidităţii lor. (Tăria legăturilor de hidrogen trebuie în mod normal să varieze direct proporţional cu aciditatea lor: *p*-nitrofenol $pK_a = 7{,}14$ > *o*-nitrofenol $pK_a = 7{,}23$ > *m*-nitrofenol $pK_a = 8{,}34$). În *o*-nitrofenol însă, se formează o puternică punte de hidrogen intramoleculară (I), ceea ce împiedică formarea punţilor de hidrogen intermoleculare în procesul de separare cromatografică.



I

Scanned with OKEN Scanner

Din această cauză *o*-nitrofenolul este mai slab legat de suprafața oxidului de aluminiu și are valoare R_f mai mare decît izomerii *m*- și *p*-nitrofenol [16] (v. tabelul 16). În developanții care sînt slabi acceptori de protoni (de exemplu: benzen+2% alcool etilic) sau care nu au de loc caracter de acceptor (de exemplu cloroformul), autorii citați [16], precum și alții [7], au constatat că predomină punțile de hidrogen între nitrofenoli și adsorbant (oxid de aluminiu bazic):



Pe această bază, crește polaritatea în sensul admis în C.S.S. (v. 4.2.1.) pentru cei trei izomeri ai nitrofenolului în ordinea: *orto-* ≪*meta-*<*para-*. Valorile R_f — respectă această ordine: *p*-nitrofenolul migrează cu viteza cea mai mică, iar *o*-nitrofenolul cu viteza cea mai mare, *m*-nitrofenolul avînd o viteză intermediară (tabelul 16). Invers, în developanți cu caracter puternic acceptor

Tabelul 16

Valorile R_f ale *o*-, *m*- și *p*-nitrofenolilor în developanți slab acceptori de protoni și donori de protoni

Developantul	R_f pentru NITROFENOLUL		
	orto-	*meta-*	*para-*
Benzen+2% etanol	0,15	0,05	0,02
Cloroform	0,26	0,03	0,01

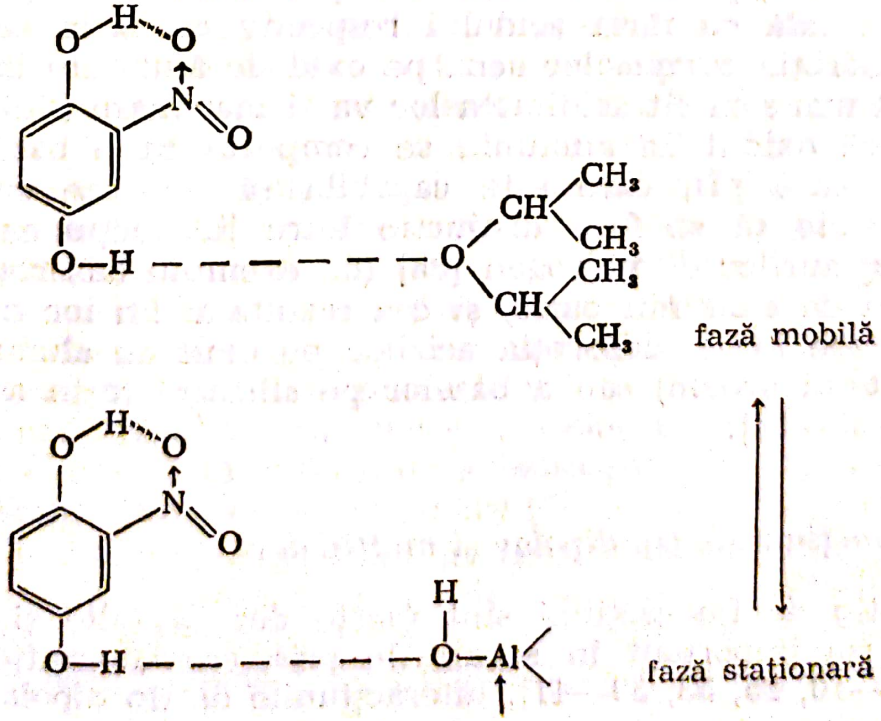
de protoni (de exemplu: eter etilic, eter diizopropilic, etc.) *o*-nitrofenolul migrează cu o viteză mai mică decît *m*-nitrofenolul și apropiată de cea a *p*-nitrofenolului (tabelul 17). Valorile R_f mici ale *p*-nitrofenolului (R_f=0,03; 0,15) indică energii de legătură mai mari

Tabelul 17

Valorile R_f ale *o*-, *m*- şi *p*-nitrofenolilor în developanţi cu caracter puternic acceptor de protoni

Developantul	R_f pentru NITROFENOLUL,		
	orto-	*meta-*	*para-*
Eter etilic	0,05	0,26	0,03
Eter diizopropilic	0,18	0,44	0,15

ale acestuia cu adsorbantul bazic decît cu developantul. Dacă în molecula *o*-nitrofenolului se introduc substituenţi în poziţia *para*, valorile R_f se modifică mult în funcţie de natura substituentului. De exemplu, introducerea unei grupe —OH, dă posibilitatea legării 4-hidroxi-2-nitrofenolului de ambele faze prin legături de hidrogen. Astfel, folosind ca developant eter diizopropilic şi ca adsorbant oxid de aluminiu bazic, substanţa se va repartiza între cele două faze după schema de mai jos. Valorile R_f sînt relativ mari (circa 0,4) datorită formării, relativ uşor, a legăturilor de hidrogen cu developantul [14].



În general, formarea legăturilor de hidrogen intramoleculare limitează capacitatea grupelor respective de a forma legături de hidrogen intermoleculare cu faza staţionară sau cu faza mobilă. Ca urmare, valorile R_f ale acestor substanţe se vor modifica mult în raport cu valorile R_f ale izomerilor. Efecte orto similare cu cele discutate în cazul *o*-nitrofenolului se întîlnesc la numeroase alte substanţe (de exemplu la acizii *o*-hidroxibenzoic, 2,6-dihidroxibenzoic etc.).

Împiedicarea sterică a grupelor capabile de a forma legături de hidrogen intermoleculare, conduce de asemenea la scăderea capacităţii moleculelor respective de a se lega de adsorbant sau developant prin legături de hidrogen. De exemplu, valorile R_f ale alchilfenolilor *orto*-substituiţi scad în developanţi-acceptori de protoni odată cu creşterea volumului grupei alchil. Invers, cînd faza staţionară are capacitate mai mare decît faza mobilă de a forma legături de hidrogen, valorile R_f scad odată cu scăderea volumului grupei alchil din poziţia *orto* [14, 15, 32].

5.1.2. *Adsorbţia acizilor şi a bazelor prin ionizare*

S-a constatat că există o adsorbţie preferenţială a acizilor pe oxid de aluminiu bazic şi a bazelor pe silicagel. În acest caz, rezultă energii de adsorbţie mult mai mari decît în cazul formării legăturilor de hidrogen [6, 7]. Energia de adsorbţie a substanţelor conţinînd grupe acide, pe oxid de aluminiu şi cea a bazelor pe silicagel poate fi corelată cu tăria acidului respectiv cu tăria bazei. Prin urmare, adsorbţia compuşilor acizi pe oxid de aluminiu bazic va fi cu atît mai mare cu cît aciditatea lor va fi mai mare (ţinînd seama de faptul că oxidul de aluminiu se comportă ca o bază definită printr-o valoare *p*H, care este capabilă să ionizeze substanţele acide). Trebuie să se facă distincţie între interacţiunea datorată formării legăturilor de hidrogen [33] (de exemplu adsorbţia fenolilor pe oxid de aluminiu bazic) şi cea rezultată din ionizarea completă care are loc la adsorbţia acizilor pe oxid de aluminiu (prin pierderea unui proton) sau a bazelor pe silicagel (prin adiţia unui proton) [7, 33—38].

5.1.3. *Interacţiuni de tip dipolar şi multipolar*

Acest tip de interacţiuni sînt foarte des întîlnite şi de aceea joacă un rol important în separările prin cromatografie în strat subţire [1—10, 25, 33, 39—41]. Interacţiunile de tip dipolar se dato-

Scanned with OKEN Scanner

resc fenomenului de polarizație al substanțelor. Polarizația la rîndul ei, fiind definită ca efectul de formare a dipolilor induși și de orientare a dipolilor permanenți, sub influența unui cîmp electric [27, 31]. Interacțiunile de tip dipolar și multipolar sînt la rîndul lor diferite: ion-dipol permanent; dipol-dipol permanent; dipol-dipol indus; dipol-cuadrupol permanent; cuadrupol-cuadrupol permanent etc.

În general, cîmpul electric dat de suprafața adsorbanților folosiți în C.S.S. este relativ puternic la distanțe mici, ca urmare, energia interacțiunilor de acest tip poate fi suficient de mare [1] în funcție de polaritatea substanțelor de separat. Asemenea interacțiuni (de tip dipolar și multipolar) pot să formeze cu ambele faze toate substanțele polare (polarizabile, v. Cap. 4.2.1.), cu condiția ca fazele respective să fie formate din molecule polare sau polarizabile. De exemplu: *o*- și *m*-dinitrobenzenii cu moment de dipol permanent ($\mu_o = 6$ D, $\mu_m = 3{,}89$ D), se adsorb diferit pe suprafata polară a silicagelului. În prezența unui developant slab polar valoarea R_f a *m*-dinitrobenzenului este mai mare decît aceea a o-dinitrobenzenului [39]. În același timp însă, *p*-dinitrobenzenul fără moment de dipol permanent ($\mu = 0$), este adsorbit mai puternic pe suprafața silicagelului decît nitrobenzenul cu un moment de dipol permanent semnificativ [39]. Acest fapt poate fi pus în legătură cu prezența celei de a doua grupe polare (—NO_2) în moleculă [6—9, 42]. Rezultă că momentul de dipol permanent al substanțelor nu este suficient pentru a explica comportarea lor în adsorbția (absorbția) cromatografică prin interacțiuni de tip dipolar. Un rol deosebit de important îl au grupele polare dintr-o moleculă. Chessik și colab. [43] au observat că energiile de adsorbție ale diferitelor grupe polare, corectate pentru forțe de dispersie, sînt proporționale cu momentul lor de dipol. Acest fapt sugerează un rol important al grupelor polare în adsorbția (absorbția) cromatografică. Grupele polare pot fi activate sau dezactivate în procesul de interacțiune cu adsorbantul de către alți substituenți din moleculă. Aceștia acționează modificînd distribuția electronică a grupelor sau împedicînd steric interacțiunea cu adsorbantul [44]. De exemplu, în cazul substanțelor cu grupe puternic polare, există o preferință generală pentru adsorbția mai mare a acelor izomeri în care efectul donor de electroni al diferiților substituenți din moleculă asupra grupelor respective este cel mai mare [6].

Deosebit de interesante sînt în acest sens lucrările lui Snyder [1—7, 44], care studiază energiile de adsorbție ale diferitelor grupe individuale, ținînd însă seama de interdependența lor cu restul moleculei. Urmărind efectele electronice și de împiedicare sterică asu-

Scanned with OKEN Scanner

pra creşterii sau scăderii energiei de adsorbţie, el interpretează comportarea cromatografică a multor grupe de substanţe organice. Autorul consideră că toate grupele polare dintr-o moleculă se adsorb prin alinierea dipolilor lor datorită cîmpului electric al suprafeţei adsorbantului. Energia de adsorbţie a întregii molecule este dată de suma energiilor de adsorbţie care rezultă din interacţiunea tuturor grupelor polare cu cîmpul electric al adsorbantului. De exemplu, dacă se urmăreşte separarea cromatografică a unor derivaţi cloruraţi ai benzenului pe oxid de aluminiu, folosind un developant slab polar (*n*-pentan) [6], rezultă următoarea ordine de separare, prezentată în sensul creşterii adsorbţiei: benzen<clor-benzen<*m*-diclorbenzen<*p*-diclorbenzen<*o*-diclorbenzen. Se observă că adsorbţia creşte cu numărul atomilor de clor din moleculă. Diferenţa de adsorbţie dintre izomerii dicloruraţi este legată de posibilitatea de interacţiune mai mare sau mai mică a acestora cu cîmpul electric al adsorbantului, în funcţie de poziţia atomilor de clor în moleculă. Astfel *p*-diclorbenzenul se adsoarbe mai puternic decît *m*-diclorbenzenul. Aceasta este tendinţa generală de adsorbţie preferenţială a moleculei mai liniare; *p*-diclorbenzenul, spre deosebire de *m*-diclorbenzen are posibilitatea de a interacţiona cu toate grupele polare care se află în linie dreaptă pe suprafaţa adsorbantului. În cazul *o*-diclorbenzenului, energia de adsorbţie mai crescută se explică pe deoparte prin momentul de dipol mare, iar pe de altă parte prin interacţiunea simultană a celor doi atomi de clor cu o singură poziţie adsorbantă a suprafeţei oxidului de aluminiu. Această comportare se observă şi în cazul altor substanţe cu structuri asemănătoare [4, 7, 16]. Grupele polare dintr-o moleculă sînt „centrii de ancorare" a moleculelor pe suprafaţa adsorbanţilor. Deseori, aceste grupe determină geometria moleculelor în adsorbţia pe „muchie", „în plan", sau concomitent „pe muchie şi în plan" [9, 18—20, 25, 45].

Grupele puternic adsorbante (metoxi, nitro, acetil etc.) legate de un nucleu aromatic, tind să reducă energia de adsorbţie a nucleului, prin delocalizarea electronilor π ai acestuia şi adsorbţia preferenţială prin aceste grupe [7, 40]. Astfel, grupele puternic atrăgătoare de electroni reduc energia de adsorbţie a nucleului de care sînt legate (interacţiunea dipolară efectuîndu-se preferenţial prin intermediul acestora), în timp ce grupele donoare de electroni cresc energia de adsorbţie a nucleului (interacţiunea dipolară realizîndu-se în acest caz prin intermediul nucleului, de exemplu: alchilbenzenii) [6, 14].

O moleculă poate fi adsorbită simultan prin grupele polare (—CN, $-NO_2$, Hlg etc.), cu energii de adsorbţie mari şi prin sistemul de electroni π ai nucleului cu energii de adsorbţie mai mici [6—9, 46, 47]. Energia de adsorbţie a moleculei va fi energia globală. În cazul

Scanned with OKEN Scanner

substanţelor aromatice este importantă uşurinţa cu care se poate situa molecula paralel cu suprafaţa adsorbantului, adsorbţia putînd fi inhibată datorită efectelor sterice ale substituenţilor.

Un alt exemplu de separare prin cromatografie în strat subţire unde interacţiunea substanţelor cu adsorbantul sugerează simpla atracţie coulombiană, este separarea acidului *o*-hidroxibenzoic şi a unor izomeri cloruraţi ai acestuia folosind ca adsorbant silicagelul şi ca developant un amestec de benzen-acid acetic (6 : 1) [48]. Rezultă următoarea ordine de separare, prezentată în sensul creşterii adsorbţiei: acidul 2-hidroxibenzoic (I)<acidul 5-clor-2-hidroxibenzoic (II)<acidul 3-clor-2-hidroxibenzoic (III)<acidul 3,5-diclor-2-hidroxibenzoic (IV) (tabelul 18). Se observă că adsorbţia creşte de la

Tabelul 18

Valorile R_f ale acidului 2-hidroxibenzoic şi a izomerilor săi cloruraţi

Denumirea compuşilor	Valorile R_f developant: benzen-acid acetic 60:10, vo./vol adsorbant: silicagel
Acid 2-hidroxibenzoic (I)	0,90
Acid 5-clor-2-hidroxibenzoic (II)	0,83
Acid 3-clor-2-hidroxibenzoic (III)	0,79
Acid 3,5-diclor-2-hidroxibenzoic (IV)	0,59

acidul fără substituent (I), la acizii cu un singur atom de clor (II, III), şi la acidul cu doi atomi de clor (IV). Urmărind variaţia aciditătţii produşilor respectivi, se constată o creştere în acelaşi sens cu adsorbţia (I, $K_a=1{,}06\cdot10^{-3}$; II, $K_a=1{,}97\cdot10^{-3}$; IV, $K_a=4{,}64\cdot10^{-3}$. Determinările sînt făcute în apă la 25°C) [48, 49]. În prezenţa developantului acid folosit, aciditatea compuşilor respectivi scade prin împiedicarea disocierii. Prin urmare, aceşti acizi se vor deplasa, probabil, pe suprafaţa silicagelului ca substanţe nedisociate, cele două grupe —OH şi —COOH fiind legate printr-o punte de hidrogen intramoleculară [16]. Rezultă că substanţele se vor adsorbi pe supra-

Scanned with OKEN Scanner

fața silicagelului pozitivată de protonii grupelor —OH acide, prin orientarea moleculelor cu sarcina negativă spre această suprafață. Energiile de legătură vor fi proporționale cu mărimea sarcinii lor electrice parțiale, care variază cu numărul și poziția atomilor de clor. Urmărind comportarea acestor substanțe, reiese că diferențele între energiile de adsorbție (exprimate prin diferențele dintre valorile R_f) ale acidului o-hidroxibenzoic neclorurat și izomerii cloruraţi, precum și cele dintre cei trei izomeri cloruraţi, se datoresc numărului și poziției grupelor halogen din moleculă. Legătura de hidrogen prin intermediul grupelor —OH sau —COOH fiind împiedicată din cauza legăturii de hidrogen intramoleculare, rezultă că interacțiunea substanțelor respective cu adsorbantul se reduce la o simplă atracție coulombiană între grupele negative de halogen și suprafața adsorbantă pozitivă [1].

Rezumînd aspectele discutate cu privire la posibilitatea legării substanțelor de faza staționară și mobilă prin simpla interacțiune electrostatică a dipolilor lor rezultă următoarele constatări.

Mecanismul de adsorbție (absorbție) sugerează în unele cazuri o simplă atracție electrostatică între o sarcină negativă și una pozitivă [1, 6, 50]. Suprafețele adsorbanților se comportă, în majoritatea cazurilor ca suprafețe cu cîmpuri electrice pozitive (silicagel, oxid de aluminiu, oxid de magneziu etc.). Ca atare, substanțele se vor adsorbi cu atît mai puternic cu cît densitatea electronică la grupele polare va fi mai mare [1]. Energia de adsorbție a unei grupe va fi direct proporțională cu sarcina negativă parțială concentrată la acea grupă [6, 7]. În cazul developanților polari sau a fazelor staționare lichide polare, moleculele polare ale acestora pot induce un moment de dipol în moleculele substanțelor de separat (polarizabile), datorită cîmpului electric al dipolilor lor. La fel, developanții polarizabili se pot polariza pe suprafața adsorbanților polari [11, 12, 39].

Factori importanți sînt efectele electronice și sterice, care duc la creșterea sau scăderea adsorbției (absorbției) [6—9, 16, 18, 48, 51—54]. Activarea electronică a unei grupe puternic adsorbante duce la creșterea energiei de adsorbție, iar împiedicarea sterică duce la scăderea energiei de adsorbție, crescînd distanța între grupa adsorbantă și suprafața adsorbantului. În legătură cu aceste efecte, intervine ca factor important ușurința cu care o moleculă se poate „acomoda“ la suprafața adsorbantului [6—9].

Energia de adsorbție a moleculei întregi este egală cu suma energiilor de adsorbție a diferitelor grupe polare. Polarizația moleculei este funcție de natura, numărul și poziția grupelor polare și de intensitatea cîmpului electric al suprafeței adsorbantului [3, 55].

Scanned with OKEN Scanner

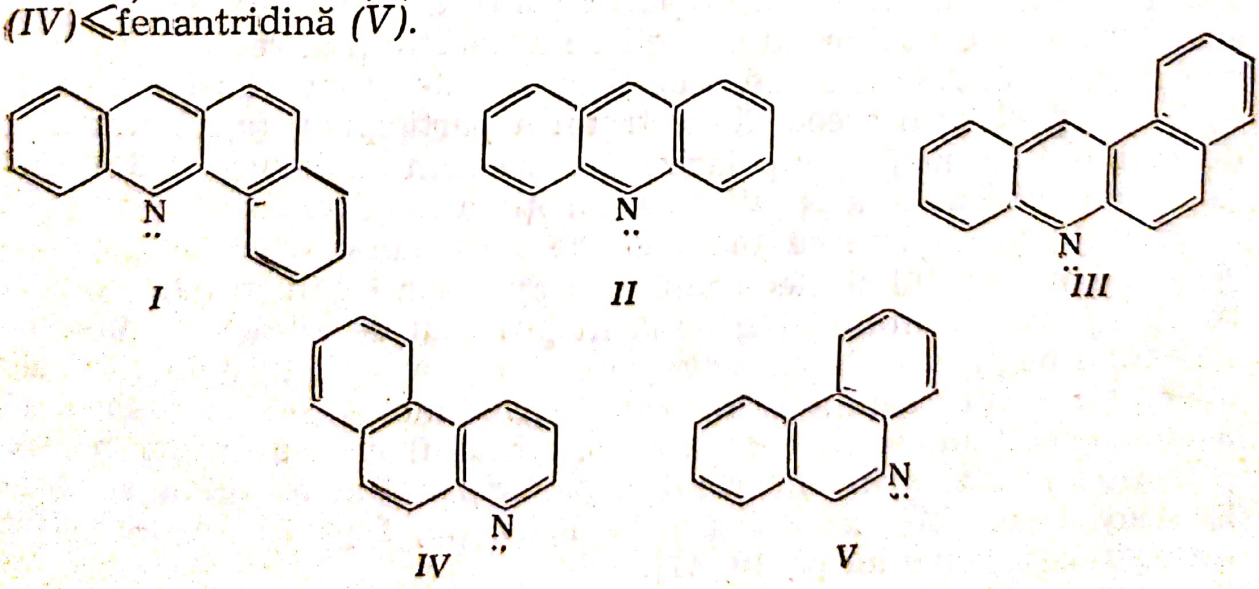
5.1.4. *Interacţiuni prin formare de complecşi donor-acceptor*

La separarea prin cromatografie în strat subţire pe oxid de aluminiu a heterociclilor cu azot, se consideră că are loc formarea unor legături de tip donor-acceptor între un atom de aluminiu cu rol de acceptor de electroni şi electronii neparticipanţi ai heteroatomului care are rolul de donor [1, 4, 18—20, 41, 50].

Se ştie că la elementele din perioada a III-a, a Sistemului periodic a lui Mendeleev, sînt disponibili orbitalii neocupaţi 3*d*, ceea ce justifică tendinţa aluminiului de a forma legături complexe [27, 56, 57].

Zechmeister [58], Snyder [3—9, 40], Klemn [18, 19, 46, 59—61], Sawicki [47] şi alţii, au constatat la separarea cromatografică pe oxid de aluminiu a heterociclilor cu azot, comparativ cu hidrocarburile aromatice corespunzătoare, că prin înlocuirea unei grupe =CH— dintr-o moleculă cu o grupă =N—, adsorbţia moleculei respective creşte (de exemplu, pentru *trans*-stilben $R_f=0{,}78$, pentru *trans*-2-stilbazol $R_f=0{,}49$; pentru *trans*-3-stilbazol $R_f=0{,}24$ iar pentru *trans*-4-stilbazol $R_f=0{,}18$) [59]. Ei au sugerat că în acest caz, are loc formarea unor complecşi cu transfer de sarcină [18] între compuşii heterociclici aromatici cu azot şi suprafaţa oxidului de aluminiu care funcţionează ca acceptor de electroni. Este posibil ca aceeaşi moleculă să formeze atît complecşi donor-acceptor cît şi complecşi π, cu suprafaţa adsorbantului, incluzînd atît electronii neparticipanţi ai heteroatomului cît şi electronii π ai moleculei [9, 18].

Urmărind separarea cromatografică pe oxid de aluminiu a unor heterocicli cu azot, Klemn şi colab. [15] obţin următoarea ordine de separare, prezentată în sensul creşterii adsorbţiei: benzo (c)-acridină (*I*) ≪acridină (*II*)⩽benzo (a)-acridină (*III*)=benzo (f)-chinolină (*IV*)⩽fenantridină (*V*).



I *II* *III* *IV* *V*

Scanned with OKEN Scanner

Dacă se urmărește ordinea scăderii adsorbției acestor substanțe ($V \rightarrow I$), se observă că influența cea mai mare o are ecranarea sterică a atomului de azot. Fenantridina (V) care în soluție este cea mai slabă bază din acest grup de substanțe (ceea ce se deduce din comportarea ei în amestec alcool etilic-apă 1 : 1) [18], se adsoarbe cel mai mult, adică se comportă ca baza cea mai puternică față de oxidul de aluminiu (acid Lewis). În același timp, benzo (c)-acridina, la care atomul de azot este împiedicat steric, se adsoarbe cel mai puțin, comportîndu-se ca cea mai slabă bază față de oxidul de aluminiu. Se presupune că, în primul caz, predomină legătura cu suprafața adsorbantului, prin atomul de azot. Energia de adsorbție fiind mare, substanța este reținută puternic de adsorbant. În cazul al doilea, al benzo (c)-acridinei (I), cînd atomul de azot este împiedicat steric, predomină legăturile prin sistemul de electroni π ai ciclurilor. Energia de adsorbție a acestui tip de legătură fiind mai redusă, substanța este slab legată de adsorbant și are o viteză de deplasare mare [9, 59]. Dacă, în cazul tuturor moleculelor prezentate anterior, s-ar forma legături numai prin sistemul de electroni π (complecși π) ar însemna că adsorbția benzo (a)-acridinei să fie egală cu aceea a benzo (c)-acridinei și mai mare decît aceea a fenantridinei. Or, diferențele sînt evidente și ordinea intensității adsorbției lor contrazice această presupunere, pledînd convingător pentru importanța legăturilor prin intermediul electronilor neparticipanți ai azotului.

Bazîndu-se pe măsurarea energiilor de adsorbție ale unui număr mare de compuși heterociclici cu azot, Snyder [4—9] aduce dovezi în sprijinul unei adsorbții simultane atît prin electronii neparticipanți ai azotului cu energii de adsorbție mari (variația fiind dată de disponibilitatea electronilor neparticipanți ai azotului), cît și prin electronii π ai ciclurilor cu energii de adsorbție mai reduse [9]. Formarea preferențială a legăturilor prin complecși cu transfer de sarcină se explică prin aceea că electronii neparticipanți (n) ai atomului de azot sînt cei mai ușor polarizabili, așa cum se deduce și din lungimea de undă mare a benzii de absorbție a unei tranziții n—π^* [62]. Snyder [9] presupune că toate grupe adsorbante (electronii neparticipanți ai azotului și electronii π ai dublelor legături) adiacente la suprafața adsorbantului, participă în procesul de adsorbție, diferențele fiind neglijabile în ce privește distanța între diferitele părți ale moleculei și suprafața adsorbantului. Orice înclinare mai importantă a moleculei față de suprafața adsorbantului, care ar pleda pentru adsorbție numai prin electronii neparticipanți ai azotului, ar duce la scăderi sensibile în energia de adsorbție, fapt ce nu s-a putut constata experimental [9, 40, 41].

Scanned with OKEN Scanner

Ca urmare, configurația preferată este aceea în care toți atomii moleculei sînt adiacenți la planul major al suprafeței oxidului de aluminiu, iar atomul de azot legat, la rîndul lui, de un atom de aluminiu, se află într-un plan diferit. Acest lucru este posibil datorită unei structuri poroase, deformate, a suprafeței oxidului de aluminiu activat [9, 63]. Cînd atomul de azot este ecranat steric, legătura cu suprafața adsorbantului prin intermediul electronilor neparticipanți, este mai mult sau mai puțin împiedicată. Ca urmare, energiile de adsorbție ale acestor produși vor scădea (valorile R_f cresc) în raport cu produșii asemănători unde azotul nu este împiedicat steric (valorile R_f scad).

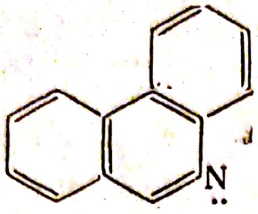
Observațiile cu privire la posibilitatea formării de legături donor-acceptor în cazul separării prin cromatografie în strat subțire pe oxid de aluminiu a heterociclilor cu azot, pot fi rezumate astfel.

— Un compus cu azot este mai puternic adsorbit pe oxid de aluminiu decît hidrocarburile corespunzătoare, unde grupa $=\ddot{N}-$ este înlocuită cu grupa $=CH-$. De aici rezultă rolul important al electronilor neparticipanți ai azotului în adsorbția cromatografică, anume posibilitatea formării unor legături de tip donor-acceptor cu energie de adsorbție mare [8, 9, 59].

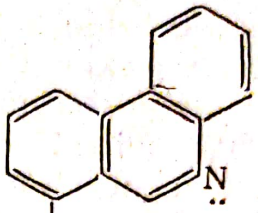
— Efectul steric. Introducerea unei grupe alchil, fenil, sau a unui nucleu benzenic condensat (angular sau liniar) în molecula unei substanțe cu azot hibridizat sp^2 ($=\ddot{N}-$), astfel încît să provoace o împiedicare sterică a legăturii donor-acceptor între electronii neparticipanți ai azotului și aluminiu, duce la scăderea adsorbției [18—20, 40, 41, 59, 64—66]. Influența efectului steric se poate observa din exemplul prezentat mai sus precum și din cele ce urmează.

— Efecte electronice. Introducerea unei grupe $-CH_3$ într-o poziție neîmpiedicată steric, duce la o creștere ușoară a adsorbției prin efect inductiv. De asemenea atomul de azot poate fi activat, sau i se poate reduce disponibilitatea electronilor neparticipanți. Acest efect poate fi determinat fie de către un alt atom de azot din aceeași moleculă, fie de către un alt heteroatom (S, O) sau de către alți substituenți din aceeași moleculă, efectele variind în funcție de poziția, natura și numărul substituenților. Efectul inductiv este relativ mic și este deseori mascat de efectul steric. Astfel, s-a constatat că, în condiții identice de cromatografiere (developant : benzen—cloroform 1 : 1, vol./vol. adsorbant — oxid de aluminiu) [9, 18, 59], adsorbția scade la compușii substituiți cu alchil, respectiv valorile R_f cresc, după cum urmează: fenantridină *(I)* ($R_f=0{,}32$) < 9-etil-

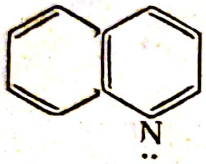
fenantridină *(II)* (R_f=0,48); chinolină *(III)* (R_f=0,42)<2-metilchinolină *(IV)* (R_f=0,45)<8-metilchinolina *(V)* (R_f=0,56); benzo (f)-chinolină *(VI)* (R_f=0,33)<2-metilbenzo (f)-chinolină *(VII)* (R_f=0,36); benzo (a)-acridină *(VIII)* (R_f=0,34)≪3,5-dimetilbenzo (a)-acridină *(IX)* (R_f=0,67). Efectul inductiv al grupei $-CH_3$ din poziţia 3 este probabil minor în raport cu efectul steric al grupei $-CH_3$ din poziţia 5 [9, 59, 67, 68].



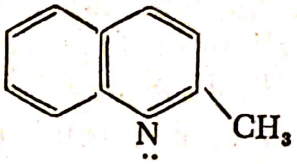
I



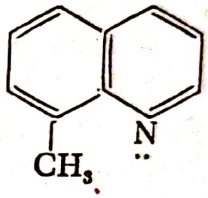
II



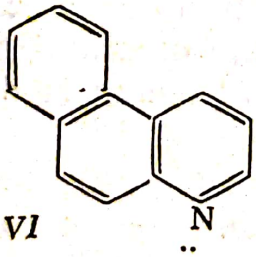
III



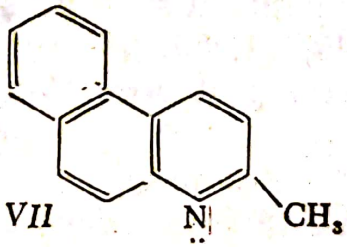
IV



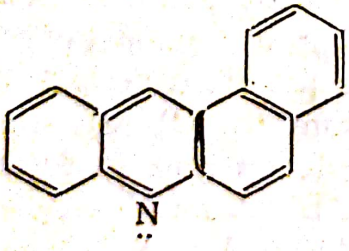
V



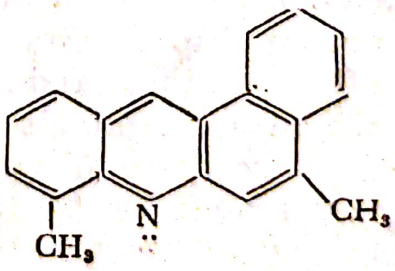
VI



VII



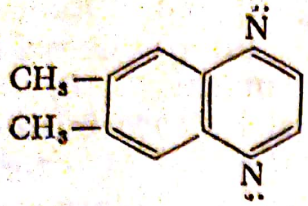
VIII



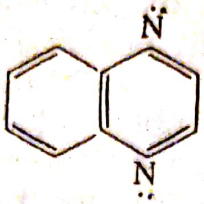
IX

Efecte sterice combinate cu efecte inductive mai puternice, pot fi remarcate în seria chinoxalinei la produşii *(X—XV)*, ale căror

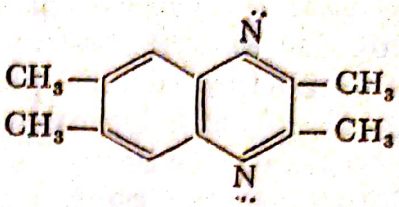
valori R_f calculate [9] şi determinate experimental [59], au coincis, conducînd la următoarele rezultate



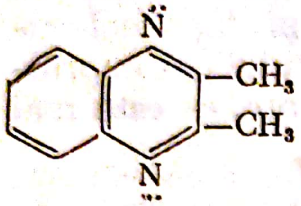
X



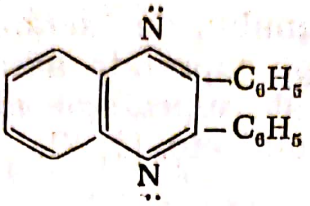
XI



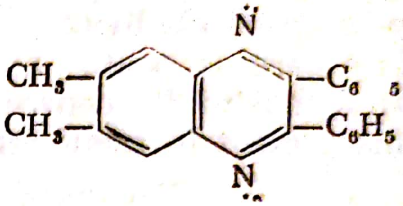
XII



XIII



XIV



XV

— 6,7-Dimetilchinoxalina *(X)* $R_f=0{,}36<$ chinoxalina *(XI)* $R_f=0{,}40$, iar aceasta, la rîndul ei, are valoarea R_f aproximativ la fel cu a 2,3,6,7-tetrametilchinoxalinei *(XII)* $R_f=0{,}41$ şi cu a 2,3-dimetilchinoxalinei *(XIII)* $R_f=0{,}41$. Dar, 2,3-dimetilchinoxalina are valoarea R_f mult mai mică decît 2,3-difenilchinoxalina *(XIV)* $R_f=0{,}61$, care are o valoare apropiată de aceea a 6,7-dimetil-2,3-difenilchinoxalinei *(XV)* $R_f=0{,}63$.

— În cazul introducerii unui al doilea atom de azot în aceeaşi moleculă, adsorbţia creşte şi respectiv valoarea R_f scade cu cît distanţa între atomii de azot este mai mare deoarece aceştia se pot manifesta independent (ca şi cînd ar fi în două cicluri diferite) [4, 6, 18, 47, 59, 69].

5.1.5. *Interacţiuni prin formare de complecşi π*

Se presupune că acest tip de legătură este determinant în cazul cromatografierii hidrocarburilor aromatice policondensate pe oxid de aluminiu [6—8, 18, 42, 55, 59, 70]. Este probabil că şi în cazul adsorbţiei altor hidrocarburi nesaturate, pe oxid de aluminiu sau pe oxid de magneziu, se pot forma astfel de legături [70, 71].

Complecşii π se formează printr-o legătură de cedare-retrocedare de electroni („back donation"). Electronii π ai hidrocarburii trec pe un orbital *s, p* sau *d* neocupat al metalului iar electronii *d* ai metalului trec pe orbitalul π*, neocupat, al hidrocarburii [56, 72].

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat că tăria acestor interacţiuni, dedusă din variaţia adsorbţiei hidrocarburilor aromatice, creşte o dată cu creşterea numărului de duble legături, cu extinderea conjugării, cu numărul grupelor donoare de electroni în poziţii favorabile; un rol deosebit de important îl are planaritatea moleculei în ansamblu [2, 6, 18, 40, 41, 50, 59]. De exemplu, s-a observat că în cazul hidrocarburilor aromatice, în absenţa unor grupe puternic adsorbante, există o tendinţă marcantă pentru adsorbţia preferenţială a celei mai liniare molecule [7, 20, 50]. Astfel, antracenul este mai intens adsorbit decît fenantrenul, crisenul decît trifenilenul etc. [6]. Aceasta se explică prin aceea că, în cazul antracenului, de exemplu, suprafaţa moleculară care se poate „aşterne" pe suprafaţa adsorbantului — cuprinzînd mai multe centre active ale suprafeţei adsorbante — este mai mare decît în cazul fenantrenului etc. [1, 7].

5.1.6. *Interacţiuni datorate forţelor de dispersie*

Acest tip de interacţiune caracterizat prin energie foarte mică şi rază de acţiune redusă este determinant doar în cazurile cînd nu se pot realiza alte interacţiuni cu energii mai mari [33, 73] (de exemplu, în cazul hidrocarburilor saturate, v. cap. 3).

Forţele de dispersie se datoresc interacţiunilor între dipolii temporari, apăruţi ca urmare a vibraţiilor moleculelor. Ele sînt forţe de natură pur cuantică şi constituie cel mai general tip de interacţiune.

Bibliografie

1. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **8**, 1962, p. 178.
2. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **8**, 1962, p. 319.
3. *Snyder, L. R.* J. Phys. Chem., **67**, 1963, p. 2344.
4. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 55.
5. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **17**, 1964, p. 73.
6. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 463.
7. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 388.
8. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **25**, 1968, p. 274.
9. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 432.
10. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 1.
11. *Bark, L. S., Graham R. J. T.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 417.
12. *Bark, L. S., Graham R. J. T.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 347.
13. *Bark, L. S., Graham R. J. T.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 120.

Scanned with OKEN Scanner

14. *Bark, L. S., Graham R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 109, 116.
15. *Bark, L. S., Graham R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 131, 142.
16. *Hĕrmanek, S., Schwarz, V., Čekcan, Z.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., **28**, 1963, p. 2031.
17. *Pataki, G.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 327.
18. *Klemm, L. H., Antoniades, E. P., Capp, G., Chiang, E., Max, E. Y. K.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 420.
19. *Klemm, L. H.* J. Heterocyclic Chem., **2**, 1965, p. 140.
20. *Sawicki, E., Stanley, T. W., Pfaff, J. D., Elbert, W. C.* Anal. Chem. Acta, **31**, 1964, p. 359.
21. *Soezewinski, E., Golkiewicz, W., Szumilo, H.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 1.
22. *Waksmundzki, A., Rozylo J.* Chem. Anal., **13**, 1968, p. 1041.
23. *Przyborowska, M., Soezewinski, E.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 516.
24. *Nover, L., Jüttner, G., Noack, S., Baumgarten, G., Luckner, M.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 419.
25. *Pristoupil, T. I., Kramlová, M., Šterbiková, J.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 367.
26. *Hecker, E.* Chimie, 8, 1954, p. 233.
27. *Cădariu, I.* Chimie fizică, București, Editura tehnică, 1967, vol. I, p. 318.
28. *Neniţescu C. D.* Chimie Organică, București, Editura didactică și pedagogică, 1966, vol. I, p. 96, 432.
29. *Angelescu, E., Stratulă, A.* Rev. fizică și chimie, Seria A, **1**, 1964, p. 401.
30. *Kireev, V. A.* Chimie fizică, București, Editura tehnică, 1962, p. 64.
31. *Angelescu, E., Cornea, F.* Bazele teoretice ale chimiei organice, București, Editura didactică și pedagogică, 1969, p. 386.
32. *Dichiaro, J. V., Bate, R. A., Keller, R. A.* C.A., **68**, 1968, p. 9148 r.
33. *Drago, R. S., Wayland, B. B.* J. Amer. Chem. Soc., **87**, 1965, p. 3571.
34. *Pastuska, G., Petrovitz, H. J.* Chem. Ztg., **86**, 1962, p. 311.
35. *Carreau, J. P., Raulin, J.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 186.
36. *Lynes, A.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 108.
37. *Barrett, G. C., Khokhar, A. R.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 47.
38. *Miyazaki, S., Suhava, J., Kobayashi, T.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 88.
39. *Garel, J. P.* Bull. Soc. Chim. France, **3**, 1964, p. 653.
40. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **6**, 1961, p. 22.
41. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 73.
42. *Snyder, L. R., Fett, R. E.* J. Chromatog., **18**, 1965, p. 461.
43. *Chessik, J. J.* Can. J. Chem., **33**, 1955, p. 251.
44. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 344.
45. *Streitwieser, A.* Molecular Orbital Theory for Organic Chemists, New York, John Wiley, 1961, p. 54.
46. *Klemm, L. H., Airee, S. K.* J. Chromatog., **13**, 1964, p. 40.
47. *Sawicki, E., Elbert, W. C., Stanley, T. W.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 120.
48. *Pelloni-Tamaș, V., Simionovici, R., Mihalaș, E., Aftalion, H.*, Lucrările Conferinţei Republicane de chimie analitică, Constanța, septembrie 1969.
49. *Beilsteins,* Handbuch der organische chimie, Berlin-Göthingen-Heidelberg, Springer Verlag, 1927, vol. X, p. 101; 1949, vol. V, p. 61.
50. *Sawicki, E.* Chem. Anal., **53**, 1964, p. 24.
51. *Heller, W.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 679.
52. *Neher, R.* Steroid Chromatography, Amsterdam, Elsevier, 1964.
53. *Halpaap, H., Reich, W.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 70.
54. *Wagner, H., Hörhamer, L., Macek, K.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 455.
55. *Snyder, L. R.* Adv. Anal. Chem. Instr., **3**, 1964, p. 251.

453

Scanned with OKEN Scanner

56. *Wells, H. F.* Structural Inorganic Chemistry, Ed. III, Oxford, Clarendon Press, 1962, p. 469.
57. *Ripan, R., Ceteanu, I.* Chimia metalelor, București, Editura didactică și pedagogică, 1967, vol. I, p. 10.
58. *Zechmeister, L.* Discussions Faraday Soc., **7**, 1949, p. 54.
59. *Klemm, L. H., Kloppenstein, C. E., Kelley, H. P.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 428.
60. *Klemm, L. H.* J. Chromatog., **3**, 1960, p. 364.
61. *Klemm, L. H., Reed, D.* J. Org. Chem., **25**, 1960, p. 1816.
62. *Katritzky, A. R.,* Physical Methods in Heterocyclic Chemistry, New York, Academic Press, 1963, vol. II, p. 135.
63. *Pery, J. B.* J. Phys. Chem., **69**, 1965, p. 211.
64. *Neuhäuser, S., Wohl, F.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 53.
65. *Bieganowska, M., Soezewinski, E., Bieganowska, St.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 121.
66. *Vermin, G.* Bull. Soc. Chim. France, **12**, 1967, p. 4492.
67. *Stambaugh, J. E., Mauthei, R. W.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 128.
68. *Pelloni-Tamaș, V., Budișteanu, N., Simionovici, R., Sterescu, M., Albert, F.* Lucrările Conferinței Republicane de Chimie fizică generală și aplicată, București, septembrie, 1968.
69. *Pelloni-Tamaș, V., Rădulescu, N., Simionovici, R.* Conferința națională de Chimie fizică, București, septembrie, 1970.
70. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 390.
71. *Snyder, L. R.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 300.
72. *Bîrcă Gălățeanu, D., Giurgea, M., Jora, I., Sahini, V., Truțea, A. Țițeica, R.* Introducere în spectroscopia experimentală, București, Editura tehnică, 1966, p. 289.
73. *Stahl, R.* Dünnschicht Chromatografie, ein Laboratoriumshandbuch, Ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967, p. 198.

Scanned with OKEN Scanner

Partea a doua

Practica cromatografiei în strat subțire

6. Aparatura folosită în cromatografia în strat subțire

Cromatografia în strat subțire se caracterizează, sub aspect experimental, printr-o mare simplitate [1—3]. Aparatura necesară poate fi la nevoie, improvizată din ceea ce se găsește la îndemînă în orice laborator: cîteva plăci de sticlă de diferite dimensiuni (de la 5×10 cm pînă la 20×20 cm); un vas cilindric de sticlă sau paralelipipedic prevăzut cu capac, utilizat drept cuvă cromatografică; micropipete de 0,1 ml; un pulverizator (obișnuit în industria cosmetică) folosit pentru reactivii de identificare și un dispozitiv metalic, de forma celui prezentat în figura 11, care servește la întinderea adsorbantului pe plăci.

Operația de întindere a adsorbanților pe plăci cu ajutorul acestui dispozitiv se face așa cum rezultă din figură. Dispozitivul se așază pe placa de sticlă, la unul din capetele ei, astfel încît înălțimea deschiderilor dimensionate ale celor doi pereți să fie cea corespunzătoare grosimii de strat dorite. Pasta adsorbantului utilizat se introduce pe la partea superioară în rezervorul *1* și dispozitivul se deplasează apoi ușor cu mîna peste placa de sticlă în sensul săgeții. Rezultă straturi uniforme de adsorbant, avînd grosimea egală cu înălțimea deschiderii alese (de exemplu 0,35 mm ca în fig. 11.). Acest dispozitiv poate fi confecționat ușor dintr-un aliaj de aluminiu prelucrat cu grijă pentru respectarea cît mai exactă a dimensiunilor celor pentru deschideri de 0,25, 0,35, 0,5 și 1 mm. El are marele avantaj că poate înlocui aparatura mai complexă, fără diferențe esențiale în calitatea straturilor obținute.

Scanned with OKEN Scanner

În mod obișnuit, se utilizează aparatură cromatografică complexă, furnizată de către numeroase firme.*

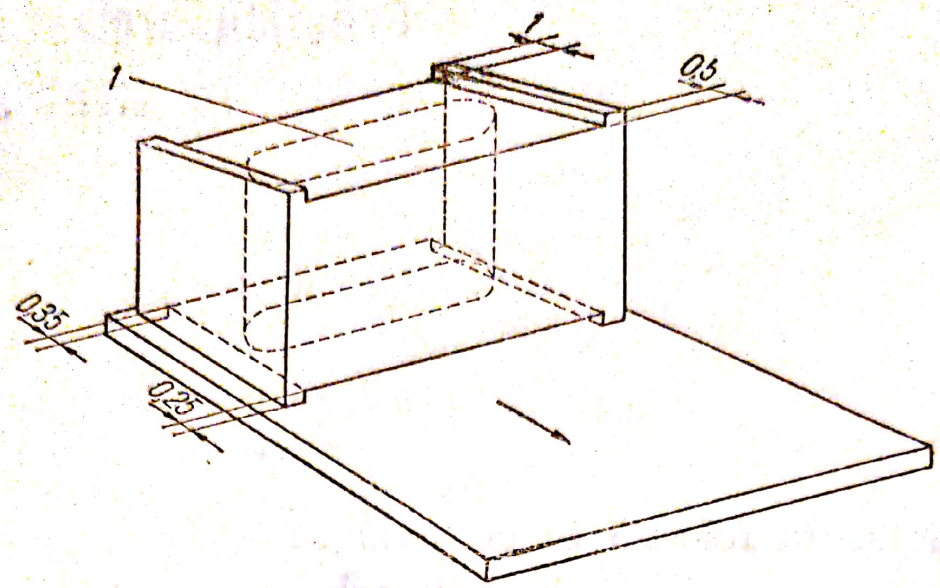


Fig. 11. Dispozitiv pentru întinderea adsorbantului pe plăci:
1 — rezervorul în care se introduce pasta adsorbantului.

6.1. Aparatura Desaga

În figura 12, este prezentată aparatura Desaga. Și în acest caz ca și la toate celelalte truse de aparatură pentru C.S.S., un rol deosebit de important îl are dispozitivul de întindere a adsorbantului pe plăci. Este foarte important ca stratul de adsorbant să fie omogen distribuit pe toată suprafața plăcii cromatografice. Cînd grosimea stratului variază, condițiile de migrare vor fi deosebite în diferite puncte ale stratului și substanțe cu aceeași structură vor avea, în final, valori R_f diferite. În cazul straturilor preparate fără un dispozitiv special, prin pulverizare etc. (v. cap. 7), această variație a grosimii stratului reprezintă una din sursele de erori.

Dispozitivul de întindere a adsorbantului, *1*, funcționează prin umplerea rezervorului, *3*, cu pasta adsorbantului, așezarea dispozitivului pe placa de sticlă în poziția arătată în figură, răsturnarea pastei peste placa de sticlă prin rotirea mînerului, *4*, și deplasarea sa în această poziție peste placa de sticlă. De obicei, se prepară în serie

* Desaga Co., G.m.b.H., 69, Heidelberg — R.F.G.; Camag Co., Muttenz, Hamburgerstrasse, 24 — Elveția; Chemetron Co., Milano, Via Sangallo 28, Italia; Serva — Eutwicklungslabor Co., Heidelberg — R.F.G.; Carlo Erba Milano, Via Carlo Imbonati, 24 — Italia; Quickfit and Quartz Ltd., Stone, Staffordshire — Anglia.

Scanned with OKEN Scanner

mai multe plăci cromatografice deodată. În acest scop se așează cap la cap plăcile de sticlă pe suportul, *2*, iar dispozitivul *1* se pune la unul din capetele suportului și se deplasează de-a lungul acestuia peste toate plăcile. Se obțin straturi uniforme de 0,25 mm grosime.

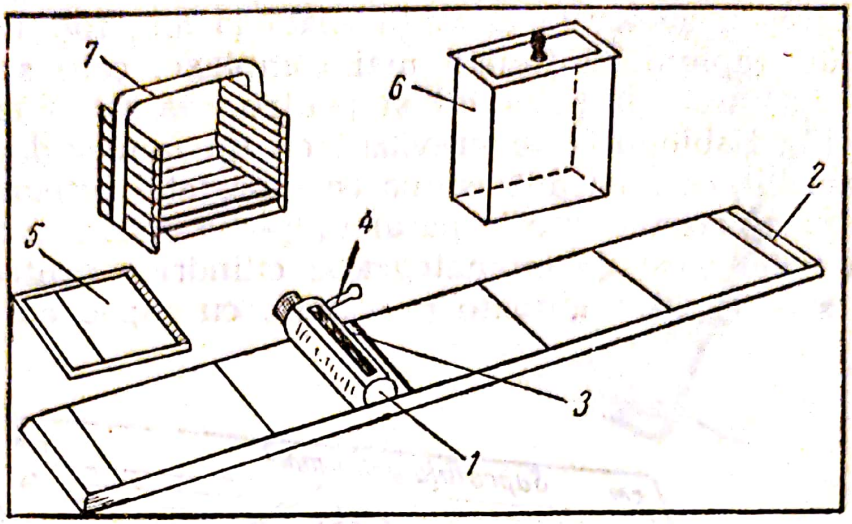


Fig. 12. Aparatura de bază pentru C.S.S.:
1 — dispozitivul de întindere a adsorbantului pe plăci (cu grosime de strat fixă de 0,25 mm); *2* — suport pentru plăcile de sticlă; *3* — rezervor pentru adsorbant; *4* — mîner; *5* — șablon simplu pentru pipetarea soluțiilor substanțelor de separat; *6* — cuvă cromatografică; *7* — stativ metalic.

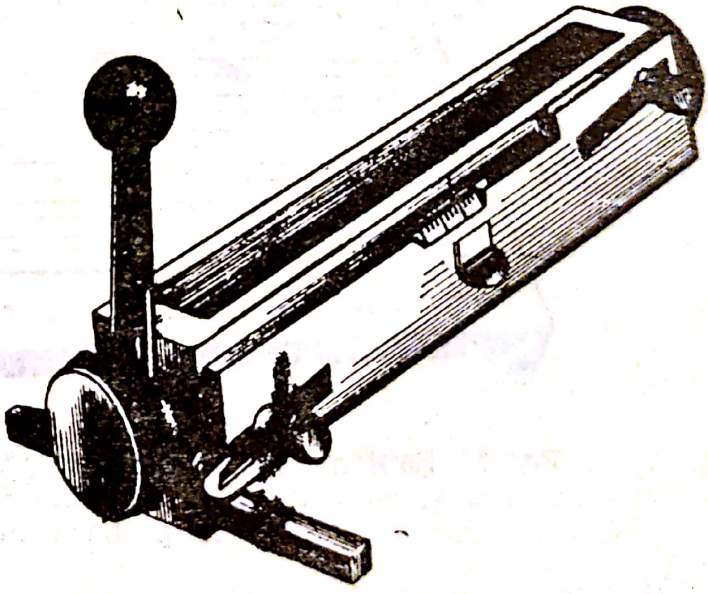


Fig. 13. Dispozitiv de întindere a adsorbanților pe plăci, cu reglarea grosimii stratului între 0 și 2 mm.

Există mai multe tipuri de dispozitive Desaga pentru întinderea adsorbanților: dispozitive cu grosime de strat fixă (de exemplu dispozitivul prezentat în figura 12, cu care se pot prepara straturi numai de 0,25 mm grosime) și dispozitive cu grosime de strat reglabilă de la zero pînă la 2 mm (fig. 13).

Scanned with OKEN Scanner

Aparatura completă este compusă din:

— 10 plăci de sticlă de grosime uniformă (4 mm) de 20×20 cm, sau 20 plăci de 10×20 cm și 2 plăci pentru capetele suportului de 5×20 cm;

— Un șablon din material plastic transparent, cu scară gradată, pentru aplicarea probelor la distanță egală (5 din, fig. 12);

— Un alt șablon, cu funcții mai complexe, care se utilizează atît pentru aplicarea probelor cît și pentru evaluarea cromatogramelor (fig. 14). Șablonul este prevăzut cu un număr de orificii cu diametru variabil, care permit estimarea suprafeței petelor.

— Un vas de cromatografie paralelipipedic pentru plăci de 20×20 cm, sau două vase de cromatografie cilindrice pentru plăci de 10×20 cm sau 5×20 cm, toate prevăzute cu capac cu șlif (6 din fig. 12).

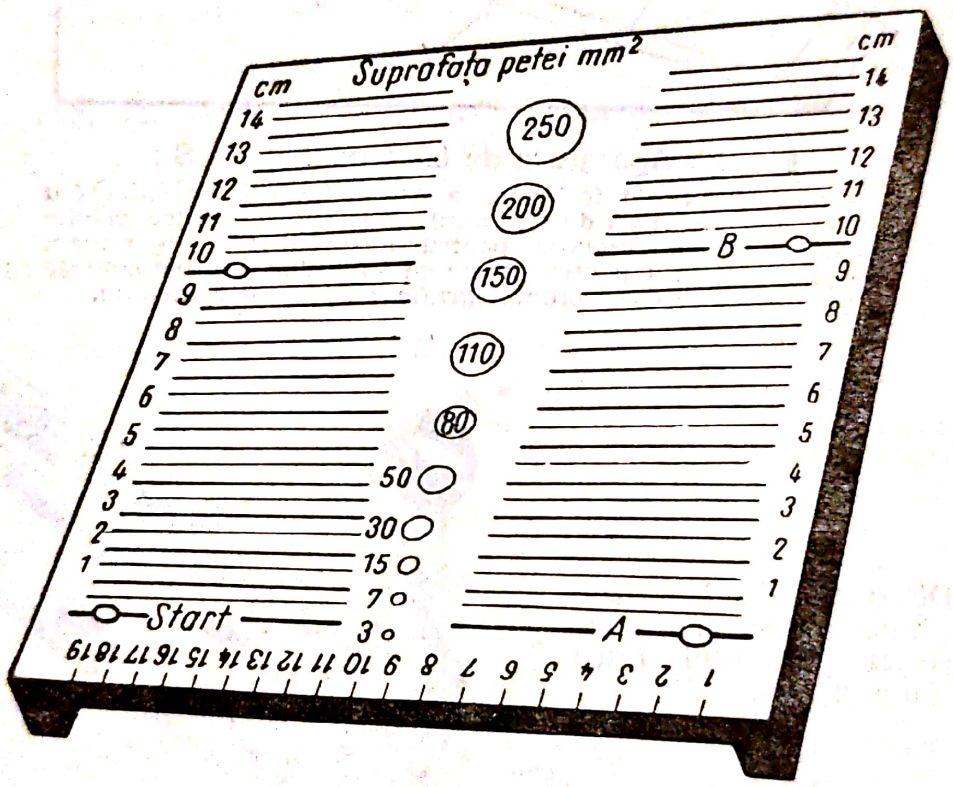


Fig. 14. Șablon pentru aplicarea probelor pe placa cromatografică și pentru evaluarea cantitativă a petelor după separare și identificare, pe baza mărimii suprafeței lor.

— O cuvă cromatografică specială, denumită „cameră S“ sau „cameră Sandwich“, cu spațiul interior foarte mult redus, asemănătoare cu cea din fig. 24.

— Un stativ metalic cu mîner, folosit pentru introducerea plăcilor cromatografice în etuvă pentru activare sau uscare, avînd o ca-

Scanned with OKEN Scanner

pacitate de 10 plăci de 20×20 cm sau 20 plăci de 10×20 cm (7 din fig. 12).

— Micropipete gradate de 0,1 și 0,2 ml, pentru aplicarea probelor.

— Seringă micrometrică pentru pipetare (fig. 15).

Fig. 15. Seringă micrometrică pentru aplicarea probelor pe placa cromatografică.

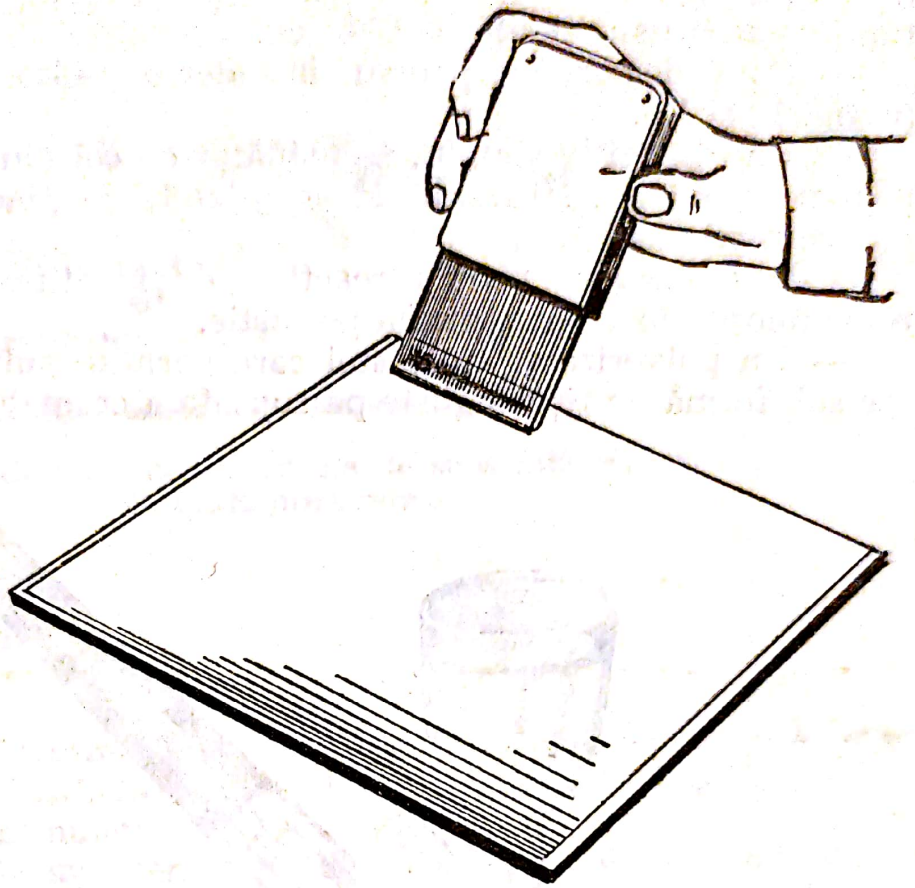


Fig. 16. Dispozitiv pentru aplicarea probelor sub formă liniară.

— Dispozitiv pentru aplicarea probelor sub formă liniară (fig. 16) și un alt dispozitiv mai complicat, pentru aplicarea probelor sub formă liniară în C.S.S. preparativă.

— Un dispozitiv de construcție specială denumit boxă, care are rolul de a proteja plăcile cromatografice de umezeală și aer în tim-

Scanned with OKEN Scanner

pul aplicării probelor. Se utilizează în cazurile în care substanţele se descompun uşor sau cînd trebuie evitată dezactivarea parţială a plăcilor cromatografice.

— Amestec test (50 ml soluţie benzenică, conţinînd cîte 0,05 g din fiecare colorant test: indofenol, dimetilaminoazobenzen şi Roşu Sudan), folosit pentru determinarea gradului de activitate al stratului de adsorbant şi silicagel Merck.

— Două dispozitive pentru întinderea adsorbantului pe plăci (v. fig. 12 şi 13).

— Un dispozitiv simplu, asemănător cu cel din figura 11, utilizat pentru întinderea stratului de adsorbant, pe plăci înguste folosite pentru încercări.

— Pulverizatoare pentru reactivii de identificare, asemănătoare celor folosite în cromatografia pe hîrtie.

— Un pulverizator tip pistol care permite pulverizarea reactivilor sub formă de fîşii înguste pe suprafaţa cromatogramelor (fig. 17).

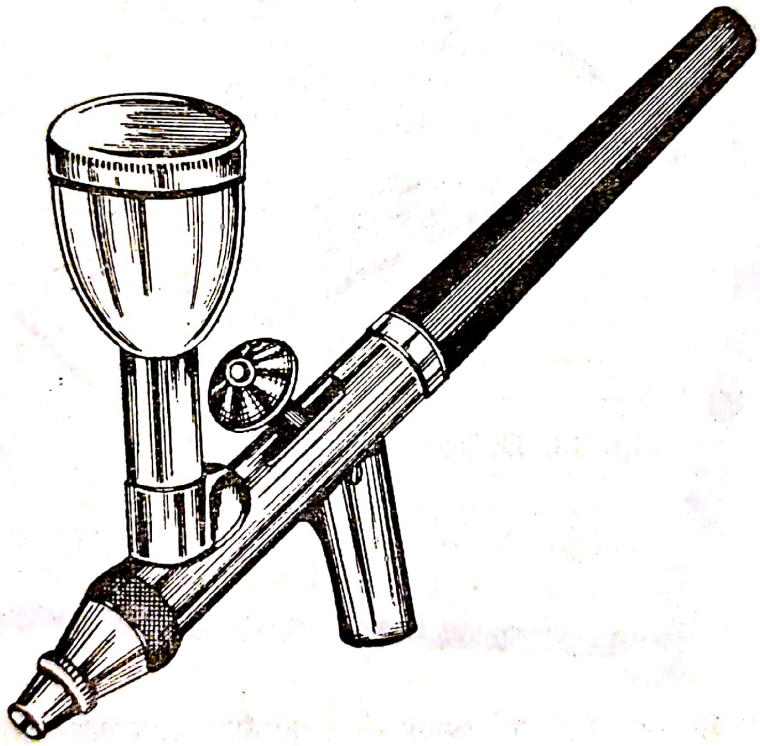


Fig. 17. Pulverizator tip pistol pentru pulverizări sub formă de fîşii înguste.

— Un aparat special pentru fotografierea cromatogramelor, asemănător cu cel din figura 27 (v. p. 101).

— Colector pentru zonele de substanţă în cromatografia în strat subţire preparativă. Dispozitivul funcţionează prin adaptarea la vid

Scanned with OKEN Scanner

astfel încît adsorbantul plus substanța separată sînt scoase cantitativ de pe placă (fig. 18).

— Diferite aparate de construcție specială, pentru interpretarea calitativă și cantitativă a cromatogramelor.

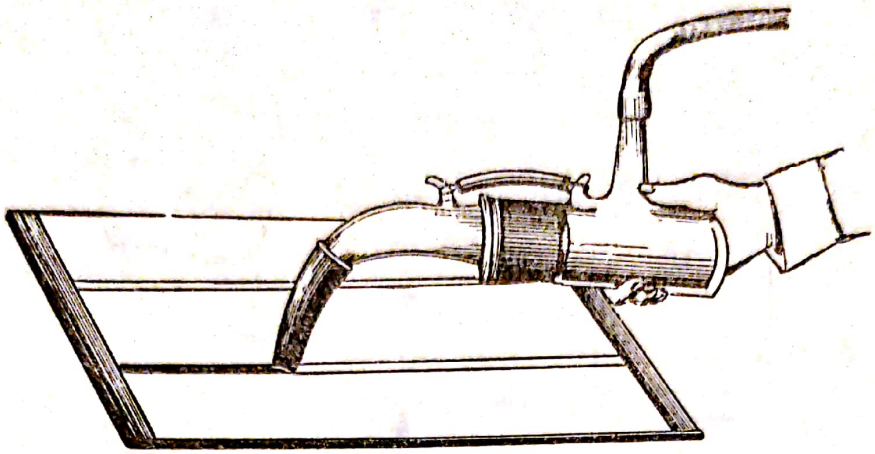


Fig. 18. Colector pentru zonele de substanță separate în C.S.S. preparativă.

6.2. Aparatura Camag

Firma Camag furnizează, de asemenea, o aparatură din cele mai complexe pentru C.S.S. În figura 19, este prezentată aparatura Camag descrisă în continuare.

Dispozitivele Camag pentru întinderea adsorbantului pe plăci, se deosebesc de dispozitivele Desaga, prin aceea că în primul caz, rezervorul este fix, iar plăcile se deplasează sub acesta, fie manual (fig. 20), fie mecanic (fig. 21), în timp ce, în al doilea caz, rezervorul este mobil și plăcile fixe, așa cum se observă din figurile 12 și 13.

Dispozitivul manual de întindere a adsorbantului (fig. 20) poate fi utilizat pentru plăci de diferite lățimi (5, 10, 20 cm). Plăcile de sticlă sînt așezate cap la cap pe suportul *2* al aparatului (fig. 20), între două șine fixe. Rezervorul *1* are laturile *3* și *4* mobile. Cele două capete *5* și *6* ale rezervorului sînt, de asemenea, mobile, astfel încît atunci cînd se prepară plăci de 10 sau 5 cm lățime, unul din aceste capete fixate cu șuruburi de suportul *2* se scoate și se fixează în același mod la mijlocul suportului închizînd un jgheab cu o deschidere interioară egală cu lățimea unei plăci de 10 cm sau a două plăci de 5 cm. Una din laturi, de exemplu *3*, se poate regla cu mare finețe și exactitate pentru stabilirea grosimii de strat dorite. Aceasta se face utilizînd un evantai metalic, prevăzut cu mai multe

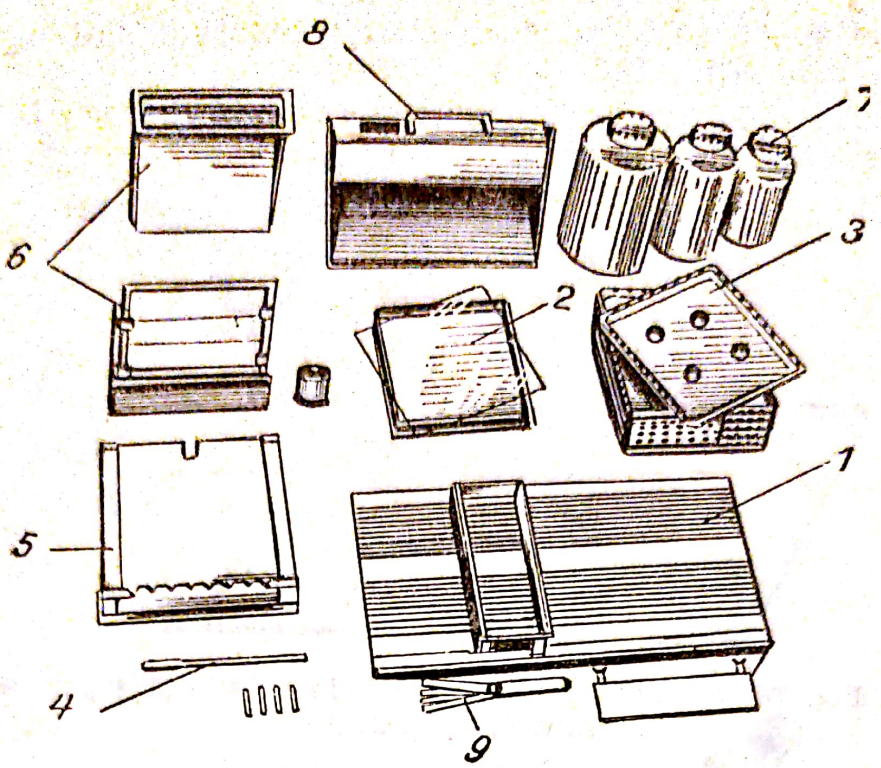


Fig. 19. Echipamentul de bază al aparaturii Camag:
1 — dispozitivul de întindere a adsorbantului pe plăci; *2* — plăci de sticlă; *3* — tăvi metalice; *4* — micropipete; *5* — şablon pentru aplicarea probelor; *6* — cuvă cromatografică şi cameră Sandwich; *7* — silicagel; *8* — lampă U.V.; *9* — evantai metalic cu palete dimensionate de la 0,1 la 1 mm grosime.

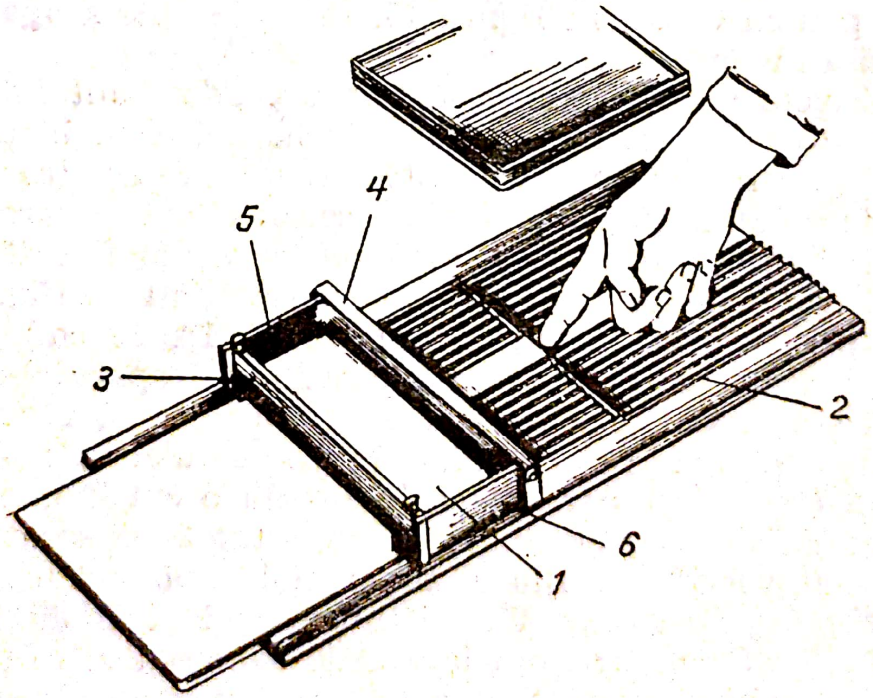


Fig. 20. Dispozitiv manual de întindere a adsorbantului pe plăci:
1 — rezervorul în care se introduce pasta adsorbantului; *2* — suport pentru plăcile de sticlă; *3, 4, 5, 6* — laturile rezervorului (mobile).

palete, astfel dimensionate încît să se poată obține grosimi de strat de 0,25 mm pînă la 2 mm (*9* din fig. 19). Pasta adsorbantului se introduce în rezervorul *1*, iar plăcile de sticlă așezate sub acesta,

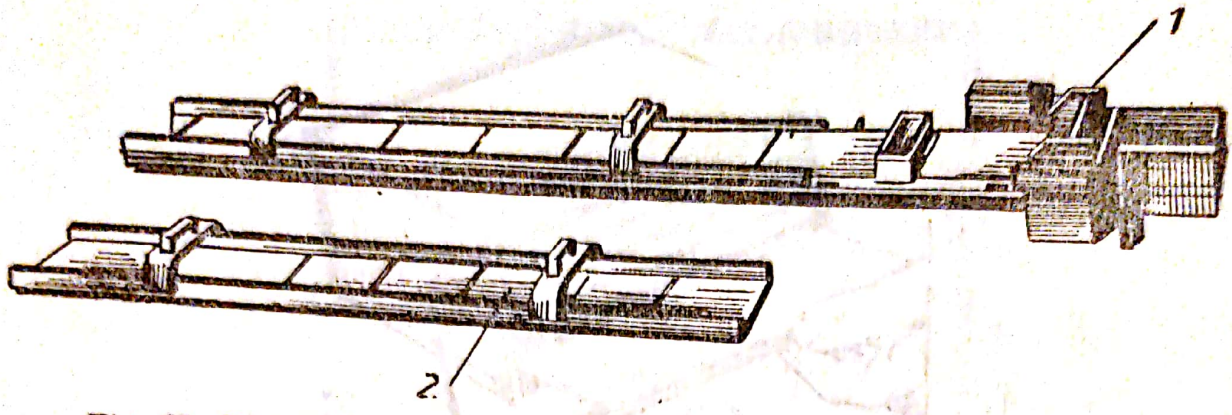


Fig. 21. Dispozitiv automat de întindere a adsorbantului pe plăci:
1 — partea mecanică a dispozitivului și rezervorul în care se introduce pasta adsorbantului; *2* — tăvi metalice.

sînt deplasate manual. Rezultă straturi cu o grosime uniformă și egală cu cea stabilită prin reglarea laturii *3* a rezervorului.

Dispozitivul automat din figura 21 prezintă avantajul că se pot prepara plăci cromatografice în serie, durata obținerii unei singure plăci mari nedepășind două secunde. Plăcile acoperite cu adsorbant sînt trecute automat pe niște tăvi metalice *2*, fixate în prelungirea dispozitivului *1*, și care, după umplere sînt înlocuite cu altele goale.

Aparatura completă este compusă din:

— 10 plăci de sticlă de 20×20 cm

— 10 plăci de sticlă de 10×20 cm

— Un stativ metalic cu mîner, închis etanș, pentru păstrarea plăcilor cromatografice (figura 22).

— Un vas de cromatografie paralelipipedic, pentru plăci de 20 cm lățime (*6* din fig. 19).

— Un vas de cromatografie pentru plăci de 10 cm lățime.

— 10 tăvi metalice pentru uscat, activat și transportat plăcile cromatografice în timpul lucrului (*3* din fig. 19).

— Un șablon din material plastic pentru aplicarea probelor la distanță egală (*5* din fig. 19). Există două tipuri: unul pentru plăci de 20 cm sau 2 plăci de 10 cm, și altul pentru plăci de 10 cm. Dispozitivul conține mai multe crestături la distanță egală care marchează locul de așezare a micropipetelor pentru aplicarea soluțiilor probelor de analizat.

— O lampă U. V. universală ($\lambda = 366$ nm sau 254 nm) (fig. 23 sau *8* din fig. 19).

— O cuvă cromatografică specială, denumită „cameră Sandwich“ (fig. 24) cu spațiul intern foarte mic, evitînd în acest mod necesitatea saturării prealabile a atmosferei din cuvă cu vaporii develo-

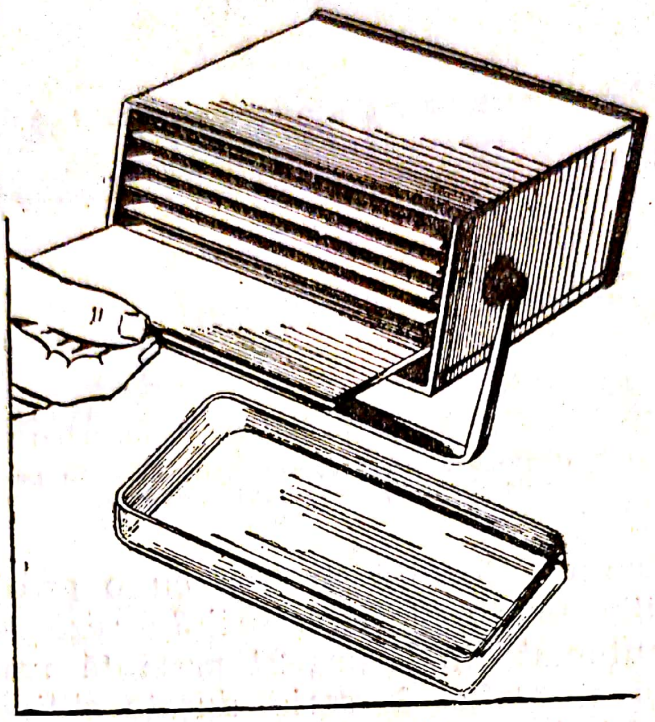


Fig. 22. Stativ metalic etanș pentru păstrarea plăcilor cromatografice activate.

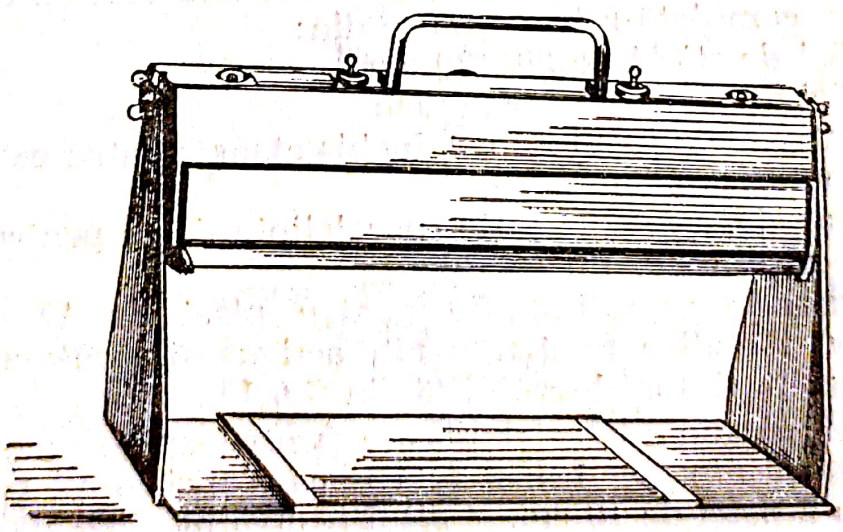


Fig. 23. Lampă U.V. universală.

pantului. Placa cromatografică pe care s-au aplicat probele de separat se așază între alte două plăci de sticlă, prevăzute cu o garnitură de jur împrejur și se fixează cu două cleme laterale. Placa

Scanned with OKEN Scanner

cromatografică astfel acoperită, este introdusă apoi în rezervorul cu developant *1* formînd un sistem perfect etanş.

— Un dispozitiv manual pentru întinderea adsorbantului pe plăci, de forma celui prezentat în fig. 20.

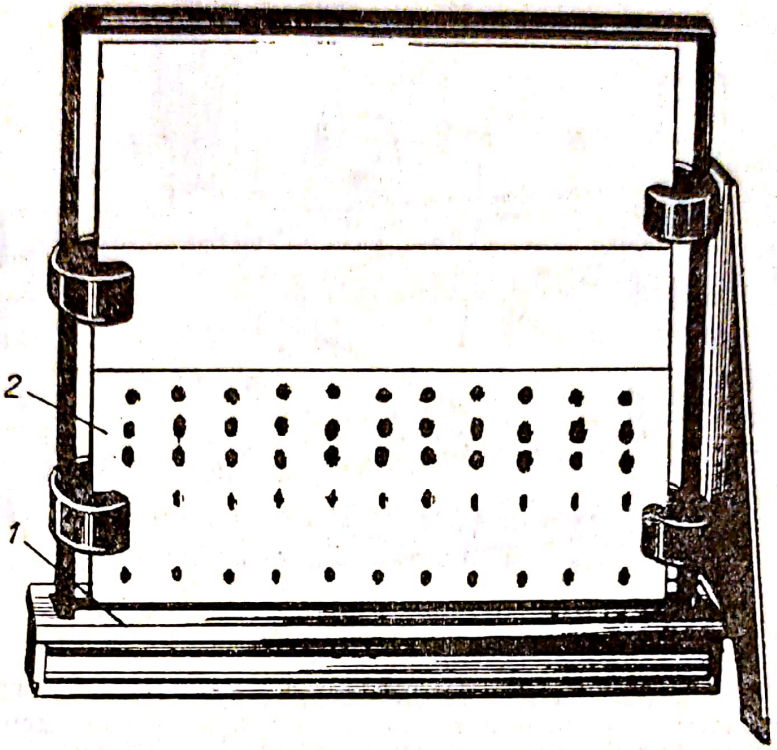


Fig. 24. Cameră Sandwich:
1 — rezervorul cu developant; *2* — cromatograma.

— Un dispozitiv automat pentru întinderea adsorbantului pe plăci de forma celui prezentat în fig. 21.

— Un dispozitiv pentru pipetare automată sub formă liniară, atît pentru separări calitative cît şi cantitative (fig. 25).

— Micropipete cu autoumplere, (*4* din fig. 19), formate dintr-un suport şi mai multe vîrfuri calibrate, pentru măsurarea cantităţii de substanţă aplicată. Volumul lor este de: 2 µl, 5 µl şi 10 µl. Între cele două piese, legătura se face prin şlif normal.

— O cameră cromatografică „Vario" — KS" pentru developare orizontală, cu posibilităţi de folosire concomitentă a mai multor developanţi diferiţi, utilizată în special pentru studii cromatografice şi pentru alegerea rapidă a developantului potrivit (fig. 26).

— Instalaţie specială pentru fotografierea cromatogramelor (fig. 27).

— Un dispozitiv automat „Diochrom" (fig. 28), pentru interpretarea cantitativă a rezultatelor, prin adaptare la un aparat de cromatografie în fază gazoasă [4].

Scanned with OKEN Scanner

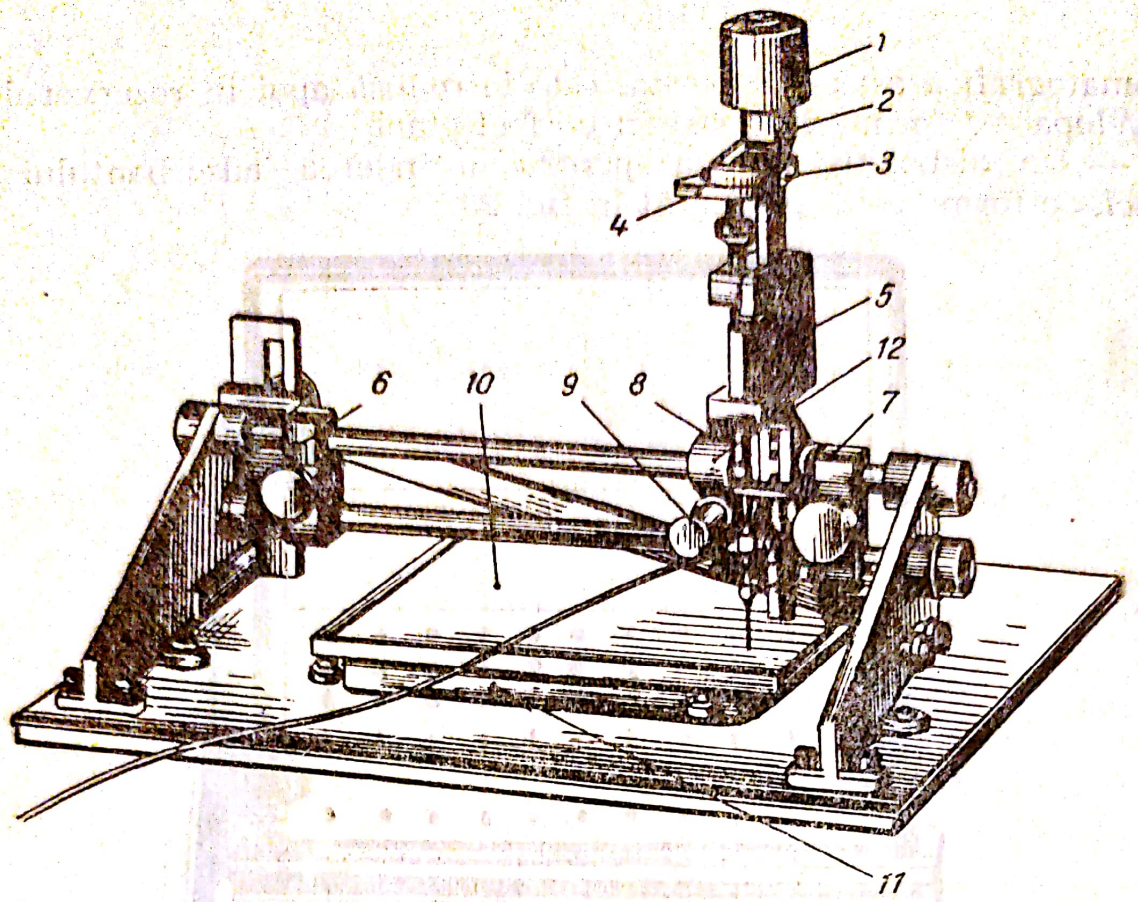


Fig. 25. Dispozitiv automat pentru aplicarea probelor sub formă liniară: *1* — cap de manevrare a blocului alunecător *12*; *2*, *3* — came pentru reglarea suportului *4*; *4* — suport pentru susținerea pistonului seringii; *5* — clemă de susținere a corpului seringii; *6*, *7* — opritoare pentru limitarea lungimii de deplasare a blocului alunecător *12* care mișcă seringa pe suprafața stratului în timpul aplicării probei; *8* — suport în formă de furculiță care servește la reglarea distanței între acul seringii și suprafața stratului; *9* — buton pentru manevrarea simultană cu *1*, a blocului alunecător *12*; *10* — placă cromatografică; *11* — riglă pentru fixarea poziției plăcii cromatografice.

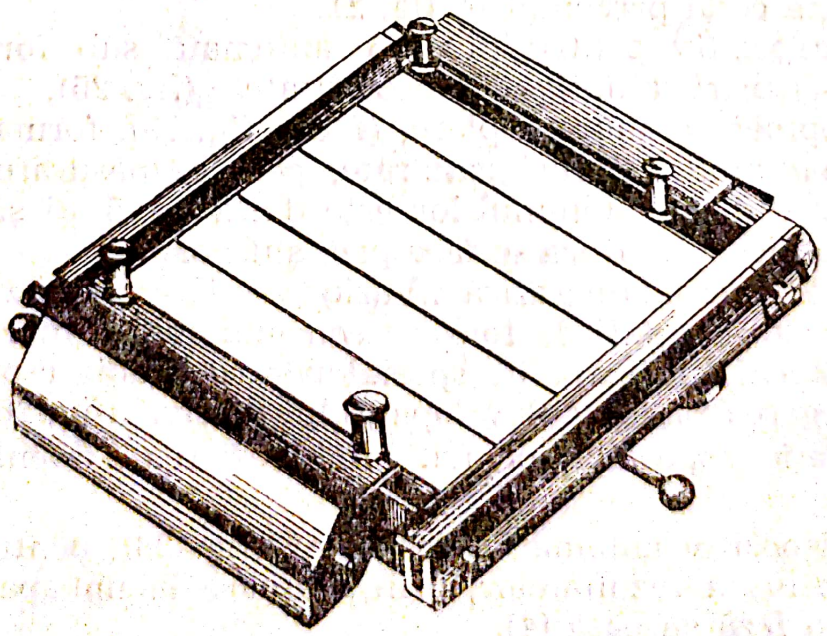


Fig. 26. Cameră Vario-KS, pentru developarea orizontală.

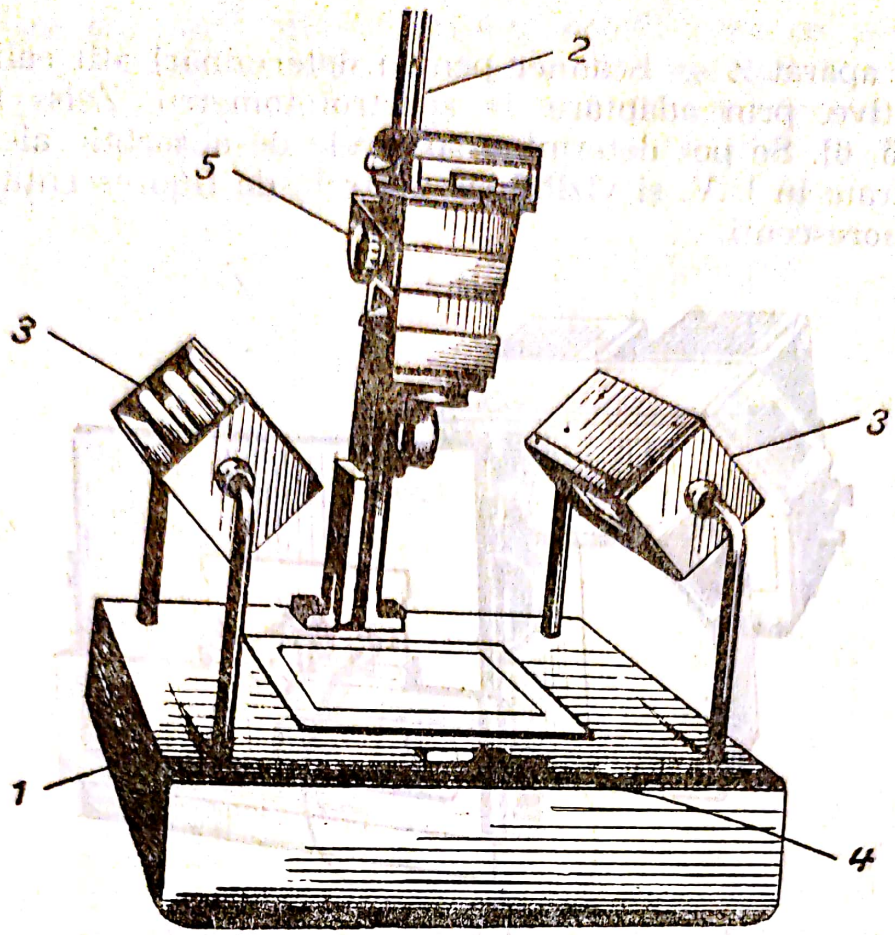


Fig. 27. Aparat Repro-Star pentru fotografierea cromatogramelor.

1 — soclu care conține o sursă de lumină albă și o fereastră de iluminare de dimensiuni 300×250 mm pe care se așază placa cromatografică; *2* — coloană cu cremalieră și pinion pentru reglarea aparatului fotografic; *3* — baterii de iluminare rotative conținînd lămpile pentru lumină albă și pentru lumină U.V. (λ =366 nm și 254 nm); *4* — selector de lumină U.V., lumină albă directă și lumină albă transmisă; *5* — suportul aparatului fotografic.

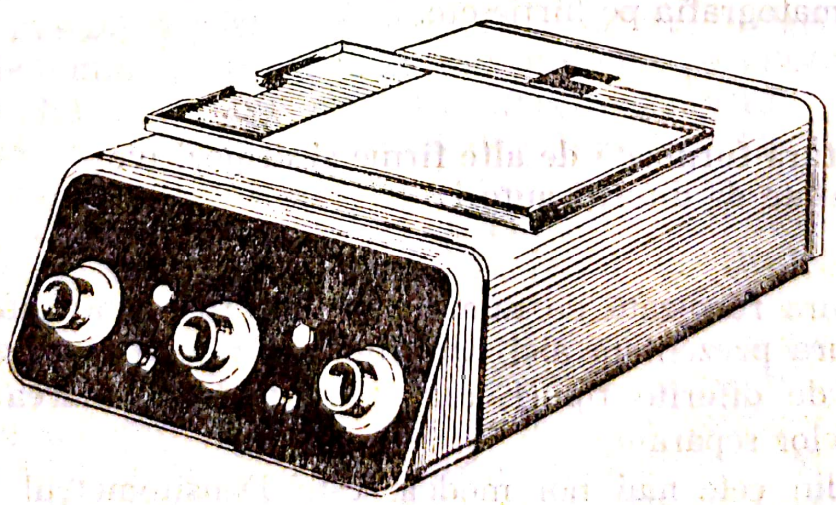


Fig. 28. Aparat Diochrom pentru determinări cromatografice calitative și cantitative prin combinare cu cromatografia în fază gazoasă.

Scanned with OKEN Scanner

— Un aparat Z — Scanner pentru determinări atît calitative cît și cantitative, prin adaptare la spectrofotometru Zeiss P.M.Q 11 (fig. 29) [5, 6]. Se pot determina spectrele de absorbție ale substanțelor separate în U.V. și vizibil și spectrele de fluorescență ale compușilor fluorescenți.

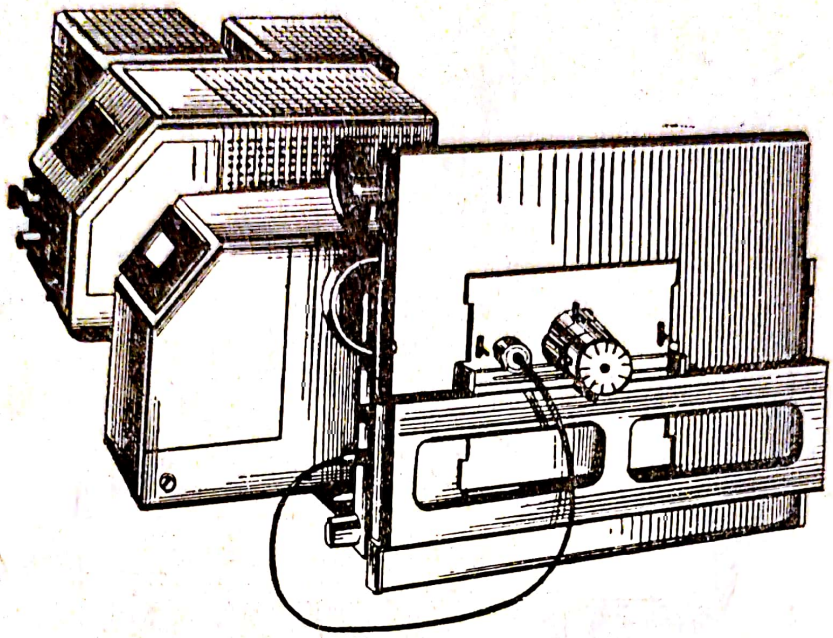


Fig. 29. Aparat z-Scanner pentru determinări cromatografice calitative și cantitative prin adaptare la un spectrofotometru.

— Amestec de coloranți pentru testarea gradului de activitate al adsorbanților și silicagel Camag.

— Pulverizatoare pentru reactivii de identificare, obișnuite și pentru cromatografia pe hîrtie etc.

6.3. Aparatură furnizată de alte firme și dispozitive prezentate de diferiți autori

Aparatura furnizată de numeroase alte firme nu diferă esențial de aparatura prezentată aici. Un interes deosebit îl prezintă densitometrele de diferite tipuri, care permit determinarea cantitativă a substanțelor separate.

Unul din cele mai noi modele este Densitometrul T.L.D. 100, furnizat de firmele Vitatron (Olanda) și Unilabor (Viena) (fig. 30).

Scanned with OKEN Scanner

Aparatul este cu „spot mobil" (Flying spot") ceea ce permite să se obţină indicaţii precise chiar şi pentru pete neregulate şi neomogene. Are două lămpi de cuarţ: una cu iod, alta cu mercur (alimentate prin stabilizatoare tranzistorizate) şi un set variat de filtre. Determinările pot fi efectuate prin absorbţie, reflexie, sau măsurători

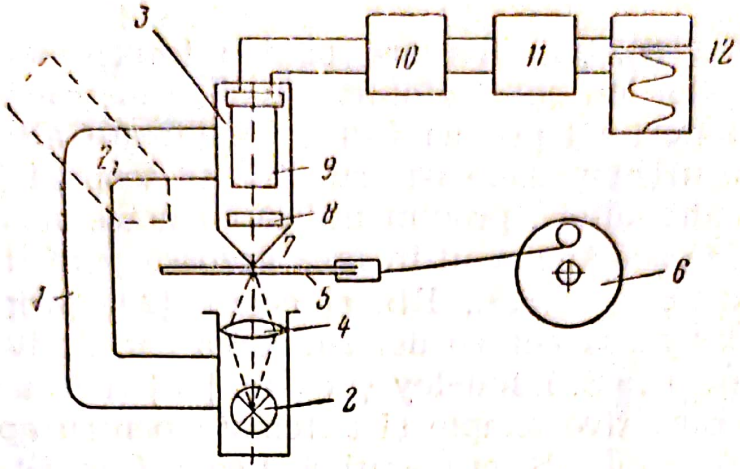


Fig. 30. Schema de funcţionare a densitometrului T.L.D. 100:

1 — bloc optic pe care sînt montate sursele de lumină *2*, 2_1 şi dispozitivul de citire *3*; *2* — lampă de iod (12 V, 55 W); 2_1 — lampă cu vapori de mercur (45 W); *4* — lentile; *5* — dispozitiv de baleaj şi suport pentru cromatograme, acţionat de excentricul *6*; *7* — diafragmă; *8* — filtre; *9* — fotomultiplicator; *10* — amplificator; *11* — corector de unghi; *12* — înregistrator cu integrator.

de fluorescenţă. Aparatul este prevăzut cu înregistrator şi integrator automat. Integrama apare direct pe hîrtia înregistratoare, sub curba densitometrică.

Sursa de lumină *2* proiectează pe cromatogramă un fascicul luminos omogen, cu diametrul de circa 3 mm. Prin intermediul sistemului de lentile şi prin alegerea unei diafragme corespunzătoare, se colimează o parte din acest fascicul, de exemplu 0,2 mm. Fasciculul de lumină astfel colimat este proiectat pe fotocatoda fotomultiplicatorului electronic care transformă semnalul luminos în semnale electrice. Pata de substanţă este baleată (explorată în zig-zag) de fasciculul de lumină prin combinarea mişcărilor de du-te-vino ale suportului cromatogramei cu mişcările uniforme ale blocului optic *1* (care este reglabil în patru trepte de viteză: 1/2, 1, 3, 6 cm/min). Semnalul obţinut de la fotomultiplicator are caracterul unor variaţii periodice datorită explorării în zig-zag a petei de substanţă. Acest semnal este amplificat, logaritmat (în funcţie de sistemul de măsurare), integrat, transmis unui instrument indicator şi în final la dispozitivul de înregistrare prevăzut cu integrator al suprafeţei curbelor densitometrice. Cu ajutorul unui sistem de ajustare, sensi-

Scanned with OKEN Scanner

bilitatea de înregistrare, de exemplu la semnale logaritmice, poate varia pentru întreaga scală de la 0—0,2 extincţii pînă la 0—3 extincţii.

Un alt densitometru asemănător ca schemă de construcţie este Densitometrul automat Fotovolt 530, furnizat de firma Fotovolt Corp. (New-York).

Firma Opton (R.F.G.) livrează pentru interpretarea cantitativă a cromatogramelor un spectrofotometru de construcţie specială [7].

Numeroşi autori au propus forme modificate ale aparaturii de bază sau dispozitive speciale pentru diferite scopuri [8—28]. Astfel Padley [28] şi alţi autori, propun utilizarea detectorului cu ionizare de flacără de la cromatograful în fază gazoasă pentru dozarea compuşilor separaţi prin C.S.S., Rix şi colab. [29] propune aplicarea spectroscopiei de masă pentru determinarea cantitativă a substanţelor separate prin C.S.S. Baddeley şi colab. [30] şi Alhadeff [31], propun diferite dispozitive simple şi automate pentru aplicarea adsorbanţilor pe plăci în C.S.S. preparativă. Firma Chemetron furnizează un dispozitiv mecanic pentru întinderea adsorbanţilor uscaţi pe plăci, denumit „Stratomat."

Un pulverizator cu dispersarea foarte fină a soluţiilor de reactivi este cel prezentat de Metaloglass Inc. Boston Mass. S.U.A. (fig. 31).

Tubul *1* poate fi introdus direct în sticla cu reactiv, iar aerul sub presiune se suflă prin tubul *2*; presiunea putînd fi controlată cu ajutorul orificiului *3*. Jetul de lichid iese prin deschiderea *4*.

În figura 32 este prezentat un alt tip de pulverizator, foarte practic, construit în Institutul de Cercetări Chimico-Farmaceutice din Bucureşti (Proca — Pelloni-Tamaş).

O cameră de developare cu gradient, în care compoziţia developantului poate fi schimbată continuu sau în trepte, este cea propusă de Wieland şi Determann [32]. În rezervorul cu developant, un agitator mecanic păstrează soluţia omogenă şi o bandă de hîrtie de filtru face legătura între partea de jos a plăcii cromatografice şi amestecul de dizolvanţi, prevenind astfel desprinderea adsorbantului de pe placă în timpul agitării. Dizolvanţii se introduc printr-un tub lateral situat la partea de jos a rezervorului şi volumul se menţine constant.

Stanley şi colab. [33] descriu un dispozitiv pentru spălarea plăcilor cromatografice, operaţie necesară în anumite cazuri ca, de exemplu, la îndepărtarea unor impurităţi care interferă la separare sau dozare [34].

Schwartz şi Pade [35] propun un dispozitiv pentru impregnarea plăcilor cromatografice cu diferiţi dizolvanţi pentru C.S.S. de repartiţie lichid-lichid. Ebing [36] recomandă camere speciale pentru sa-

Scanned with OKEN Scanner

turarea plăcilor cromatografice cu vaporii developantului înainte de cromatografiere. Thomas [37], propune un model de „cameră Sandwich" pentru tehnica radială C.S.S.

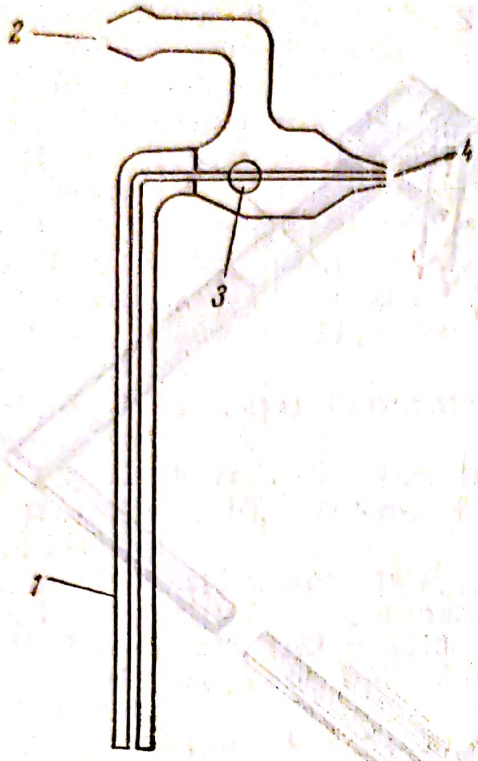


Fig. 31. Pulverizator adaptabil la sticlele cu reactivi:
1 — tubul care se introduce în sticla cu reactiv; *2* — tubul prin care se introduce aerul sub presiune; *3* — orificiu pentru controlul presiunii; *4* — deschiderea prin care iese reactivul pulverizat.

Fig. 32. Pulverizator cu rezervor.

Morgan [38] descrie un aparat care permite aplicarea concomitentă a mai multor probe pe placa cromatografică. Soluțiile probelor sînt conținute într-o serie de capilare suspendate de o bară. Prin lăsarea acestei bare, capilarele fac contact simultan cu stratul de adsorbant [39]. Firma Kesington Scientific Corp, furnizează un asemenea dispozitiv pentru aplicarea simultană a mai multor probe pe placa cromatografică (fig. 33). Probele conținute în capilare individuale, dimensionate, se aplică pe placa cromatografică prin realizarea contactului între capilare și adsorbant cu ajutorul manetelor 2. Probele pot fi aplicate individual, în grup sau simultan [39]. Un alt dispozitiv de aplicare a probelor se bazează pe sifonarea soluțiilor ce conțin substanțele de separat printr-o serie de capilare. Dispozitivul permite controlul cantității aplicate și concentrarea probei pe suprafața stratului, prin evaporarea dizolvantului cu ajutorul unui

Scanned with OKEN Scanner

curent de aer [40]. Bacon [41, 42] descrie un dispozitiv simplu pentru aplicarea probelor în scop preparativ, iar Cruess [43] un aplicator boxă pentru pipetarea probelor în atmosferă inertă. Liteanu și

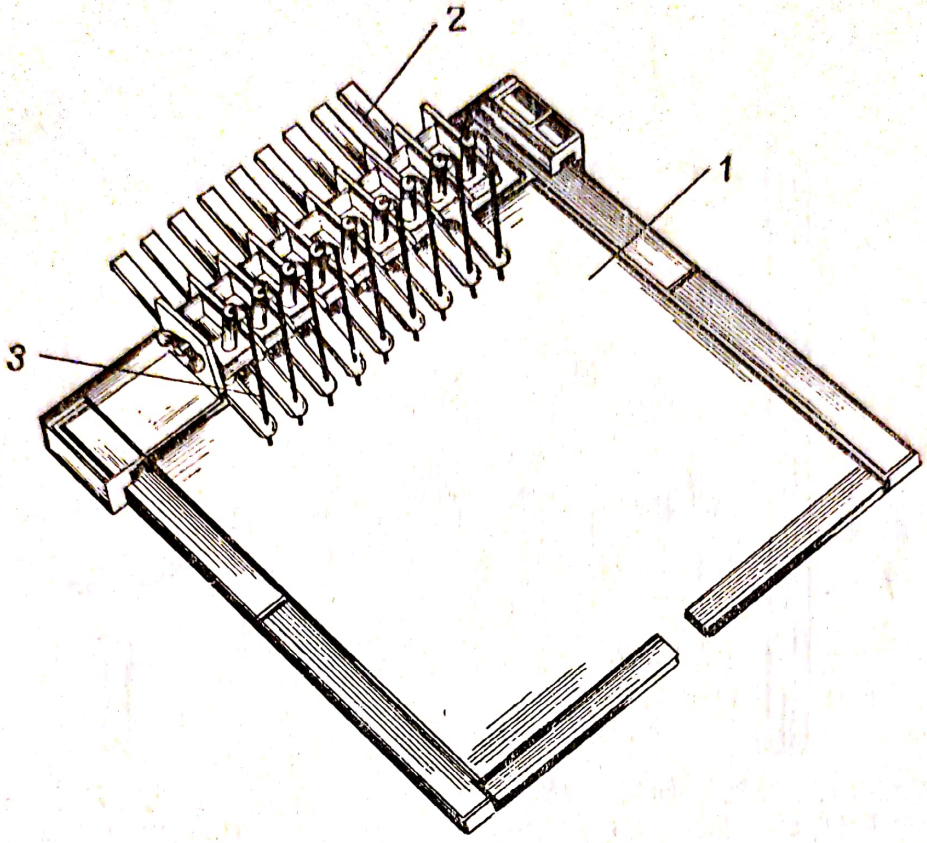


Fig. 33. Dispozitiv de aplicare simultană a mai multor probe pe placa cromatografică:
1 — placă cromatografică; *2* — manetă; *3* — tub capilar dimensionat.

colab. [44], Turina și colab. [45] și alții, propun dispozitive și cuve cromatografice pentru C.S.S. cu gradient de temperatură.

De asemenea, se utilizează un dispozitiv din material plastic pentru întinderea adsorbanților în cazul pastei ce conține azotat de argint și care atacă aparatura din metal propus de „Applied Science Laboratories, College Parck, Pa. — S.U.A.".

Bibliografie

1. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, Heidelberg, Springer-Verlag, 1962, p. 29.
2. *Demole, E.* J. Chromatog., 6, 1961, p. 2.

Scanned with OKEN Scanner

3. *Von Arx, E., Neher, R.* J. Chromatog., 8, 1962, p. 145 şi 33, 1968, p. 217.
4. *Tumlinson, J. M., şi colab.* J. Chromatog., 29, 1967, p. 20.
5. *Frodyma, M. M., Van Lien, T., Frei, R. W.* J. Chromatog., 18, 1965, p. 520.
6. *Spencer, R. D., Beggs, B. H.* J. Chromatog., 21, 1966, p. 52.
7. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumsbuch, Ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
8. *Busch, J. E., Hoffmann, P. C.* J. Chromatog., 30, 1967, p. 164.
9. *Bernard, W. E., Turner, N. A.* J. Chromatog., 29, 1967, p. 296.
10. *Wood, R., Synder, F.* J. Chromatog., 21, 1966, p. 318.
11. *Busch, J. E.* J. Chromatog., 23, 1966, p. 94.
12. *Monteiro, H. J.* J. Chromatog., 18, 1965, p. 594.
13. *Lees, T. M., Lynch, M. J., Mosher, F. R.* J. Chromatog., 18, 1965, p. 595.
14. *Wollish, E. G., Schmall, M., Hawrylyschyn, M.* Analytic Chem., 33, 1961, p. 1138.
15. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, Sec. Ed., New York, Academic Press, 1966, p. 26.
16. *Miller, J. M., Kirchner, J. G.* Analytic Chem., 26, 1954, p. 2002.
17. *Borbier, M., Jäger, H., Tobias, H., Wyss, E.* Helv. Chim. Acta, 42, 1959, p. 2440.
18. *Machata, G.* Mikrochim. Acta, 1960, p. 79.
19. *Marcucci, F., Mussini, E.* J. Chromatog., 11, 1963, p. 270.
20. *Nybom, N.* Nature, 198, 1963, p. 1219.
21. *Cerny, V., Joska, J., Labler, L.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., 26, 1961, p. 1658.
22. *Hěrmánek, S., Schwarz, V., Čekan, Z.* Pharmazie, 16, 1961, p. 556.
23. *Mottier, M., Potterat, M.* Analytica Chim. Acta, 13, 1955, p. 46.
24. *Mistryukov, E. E.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., 26, 1961, p. 2071.
25. *Pollak, V., Boulton, A. A.* J. Chromatog., 45, 1969, p. 200.
26. *Lees, T. M., De Muris, P. J.* J. Chromatog., 8, 1962, p. 108.
27. *Dauwillier, P.* J. Chromatog., 11, 1963, p. 405.
28. *Padley, F. B.* J. Chromatog., 39, 1969, p. 37.
29. *Rix, M. J., Welster, B. R., Wright, I. C.* Chem. Ind., 1965, p. 452.
30. *Baddeley, G. V., Ingster, A., Mauwaring, M.* Chem. Ind., 1969, p. 21.
31. *Alhadeff, E. S.* J. Chem. Educ., 46, 1969, p. 249.
32. *Wieland, T., Determann, H.* Experientia, 18, 1962, p. 431.
33. *Stanley, W. L., Vannier, S. H., Gentili, B.,* J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 40, 1957, p. 282.
34. *Redgwell, K. J., Bieleski, R. L.* J. Chromatog., 30, 1967, p. 231.
35. *Schwartz, J. H., Pade, A.* J. Chromatog., 34, 1968, p. 549.
36. *Ebing, W.* J. Chromatog., 44, 1969, p. 81.
37. *Thomas, A. V., Pascual, F.* J. Chem. Educ., 46, 1969, p. 319.
38. *Morgan, M. E.* J. Chromatog., 9, 1962, p. 379.
39. *Kirchner, J. G.* Thin-Layer Chromatography. În: Technique of Organic Chemistry, vol. XII, editor Weissberger A. New York, Interscience Publishers, 1967, p. 87.
40. Kensington Scientific Corp. (S.U.A.).
41. *Bacon, M. F.* J. Chromatog., 16, 1964, p. 552.
42. *Bacon, M. F.* Chem. Ind., 1965, p. 1692.
43. *Cruess, R. L., Sequin, F. W.* J. Lipid. Res., 6, 1965, p. 441.
44. *Liteanu, C., Mărgineanu, F., Macarovici, D.* Rev. Roumaine Chim., 12, 1967, p. 503.
45. *Turina, S., Šoljić, Z., Marjanović, V.* J. Chromatog., 39, 1969, p. 81.

Scanned with OKEN Scanner

7. Prepararea plăcilor cromatografice

7.1. Pregătirea plăcilor din sticlă

Se folosesc plăci din sticlă de dimensiuni variabile, de la lamele de microscop (2×5 cm) [1—5], pînă la plăci foarte mari (20×100 cm) [6]. Plăcile standardizate sînt de 20×20 cm, 10×20 cm și 5×20 cm (v. cap. 6) [7]. Se obțin din sticlă de geam, prin tăiere și șlefuire; sticla de geam utilizată trebuie să aibă o suprafață perfect plană, o grosime de circa 5 mm și să fie rezistentă la temperatura de activare și uscare a plăcilor cromatografice și a cromatogramelor (circa 100—150°C).

Înainte de întinderea stratului de adsorbant, plăcile de sticlă trebuie foarte bine spălate, degresate și uscate. Spălarea și degresarea se pot face cu detergenți obișnuiți, sau se lasă cîteva ore în amestec sulfo-cromic sau în soluții alcaline puternice. Se spală apoi, cu multă apă curată și se clătesc cu apă distilată. Se usucă în etuvă la temperaturi sub 100°C, sau se șterg cu hîrtie absorbantă (filtru sau vată de celuloză) și apoi se introduc într-un exsicator la temperatura camerei unde se pot păstra mai mult timp. Nu se indică spălarea plăcilor de sticlă cu dizolvanți organici, înainte de a aplica stratul de adsorbant, deoarece, deseori, acetona și metanolul conțin urme de grăsimi.

Plăcile de sticlă astfel pregătite pot fi utilizate direct pentru aplicarea straturilor de adsorbanți.

7.2. Prepararea pastei de adsorbanți

Adsorbanții folosiți în cromatografia în strat subțire se aplică pe plăcile de sticlă, în majoritatea cazurilor, sub formă de pastă. Prepararea straturilor cu adsorbanți uscați se practică mai rar și se întîlnește mai ales în cazul separărilor preparative [8].

7.2.1. *Prepararea pastei de silicagel*

Pastă obișnuită de silicagel G și H. Într-un pahar conic cu o capacitate de circa 150—200 ml, se introduc 25 g silicagel G (Merck) și 50 ml apă distilată. Se agită energic, timp de 30—50 s. Pasta fină

Scanned with OKEN Scanner

obținută (fără bule de aer) se întinde pe plăcile de sticlă (spălate și uscate conform indicațiilor de la cap. 7.1), cu ajutorul unuia din dispozitivele de aplicare a adsorbantului, prezentate în cap. 6. Pasta nu poate fi păstrată decît cel mult 1—2 min, din cauza prezenței sulfatului de calciu, cu rol de liant, care îi modifică repede vîscozitatea.

Pentru diferitele sorturi de silicagel G, raportul între adsorbant și apă diferă. Astfel, pentru silicagelul G Serva, se recomandă raportul 10 : 25 (g/ml), pentru silicagelul Camag D.S., 20 : 45 (g/ml), pentru silicagelul Woelm (fără liant) 30 : 45 (g/ml) etc. [9].

În general, pasta obținută trebuie să fie mai fluidă pentru straturi subțiri de 0,25—0,35 mm și mai vîscoasă pentru straturi cu o grosime mai mare, de 0,5—1 mm, sau 1—2 mm. Pentru straturile cu grosime mai mare de 1 mm (utilizate în scop preparativ), adsorbantul se aplică, de obicei, sub formă uscată și fără liant [8—10].

Pasta de silicagel se poate prepara și cu alți dizolvanți, nu numai cu apă [11, 12]. De exemplu, pentru o placă mare (20×20 cm), sînt necesare 6 g silicagel G (Merck) și 15 ml alcool etilic (86%), care se amestecă împreună pînă se obține o pastă omogenă. După Duncan [14], pasta se prepară din 4 g silicagel G (Merck) cu 10 ml alcool etilic — apă (1 : 1). Pfeiffer [4] utilizează cloroformul pentru prepararea pastei sau amestecul cloroform — metanol (2 : 1), raportul între silicagel G (Merck) și dizolvant fiind de 35 : 100 (g/ml).

Alți autori prepară pasta de silicagel cu acetonă, raportul adsorbant (silicagel G Merck) -dizolvant fiind 16 : 30 (g/g) [9].

Silicagelul H (fără liant) dă straturi cu o stabilitate mecanică bună, iar pasta preparată poate fi păstrată timp mai îndelungat, fără modificări de viscozitate, cum se observă în cazul silicagelului G. Pasta se prepară în mod analog cu cea din silicagelul G, iar raportul adsorbant — apă este 30 : 65—70 (g/ml). Amestecarea se poate face, fie prin agitare în flacon închis, fie prin amestecare cu bagheta; este importantă însă evitarea bulelor de aer care duc la obținerea de goluri în suprafața stratului.

Pastă de silicagel cu adaos de substanțe fluorescente. Pasta din silicageluri de tip G.F. sau H.F. se prepară la fel ca aceea din silicagel G sau H. Diferitele substanțe fluorescente se pot adăuga chiar în timpul preparării pastei [15]. Astfel, se folosește sulfura de cadmiu sau sulfura de zinc și silicatul de zinc, în proporție de 1,8%, adăugat de preferință ca soluție pentru a asigura o omogenizare mai bună. Prepararea pastei se face cu soluția apoasă a substanței respective; de exemplu, la 20 g silicagel D—S (Camag), se adaugă 45 ml soluție conținînd 0,3 g sulfură de zinc sau de cadmiu sau un amestec din cele două [14, 15]. În același scop se folosește și Rodamină 6 G [16] în proporție de 0,0037%; fluoresceină sodică sub

Scanned with OKEN Scanner

formă de soluție apoasă de 2′, 7′-diclorfluoresceină 0,02% [17], sau 3,5-dihidroxipiren-5, 8, 10-trisulfonat de sodiu care se încorporează în pastă ca soluție apoasă 0,025% din compusul dihidroxi și 0,033% din compusul monohidroxi [9, 18].

Pastă de silicagel neutru. Se poate prepara silicagel neutru prin amestecarea a 30 g silicagel (fără liant) cu 50 ml soluție apoasă ce conține 16 ml NaOH 0,1 N și 1,5 g amidon de orez [19, 20]. Silicagelul rezultat are *p*H-ul circa 6,4.

Pastă de silicagel alcalin. Diferiți autori prepară silicagel alcalin prin adăugare de hidroxid de sodiu sau potasiu, carbonat sau acetat de sodiu. Stahl [21] utilizează pentru prepararea pastei de silicagel, hidroxid de sodiu 0,5 N; Teichert și colab. [22, 23] prepară silicagelul alcalin prin amestecarea a 22 g silicagel G cu 45 ml KOH 0,5 N sau 0,1 N în funcție de bazicitatea dorită. Skipski și colab. [24] folosesc, în același scop, soluție de carbonat de sodiu sau acetat de sodiu 0,01 N.

Pastă de silicagel cu soluții tampon. Datorită proprietăților acide ale silicagelului, unele substanțe alcaline (de exemplu, alcaloizii) formează săruri pe suprafața stratului și nu pot fi separate de către developanții neutri. În acest caz, se folosesc straturi de silicagel impregnate cu soluții alcaline, sau straturi preparate special cu soluții tampon [25—27]. Pasta se prepară respectînd proporțiile indicate anterior între silicagel și apă, iar în locul apei se adaugă un volum egal de soluție tampon. Se folosește, de exemplu, un tampon de fosfat Sörensen cu *p*H=6,8 [23], sau, în alte cazuri, un tampon de citrat cu *p*H=3,8; soluție de acetat de sodiu 0,15 M etc.

Straturile preparate cu soluții tampon se folosesc în cromatografia în strat subțire, în numeroase cazuri. De exemplu, la separarea flavonelor [25, 28, 29], a acizilor aminați [10, 30], a alcaloizilor [26, 31], a hidraților de carbon [32—35], a pesticidelor [36], a vitaminelor [37, 38], a 2,4-dinitrofenilhidrazonelor [39], a fosfolipidelor și a acizilor grași și derivaților lor [40, 41] (v. p. 244). Pentru separarea fosfolipidelor și a unor acizi grași și derivați ai acizilor grași, se folosesc de exemplu, straturi de silicagel G cu un conținut de 10% sulfat de amoniu [41].

Pastă de silicagel cu agenți complexanți. Agenții complexanți se înglobează în straturile de silicagel la prepararea pastei. Utilizarea lor în cromatografia în strat subțire se bazează pe faptul că substanțele complexează selectiv cu complexantul și astfel se pot separa compuși care în alte condiții sînt dificil de separat.

Un complexant foarte utilizat este $AgNO_3$, datorită posibilității Ag^+ de a forma complecși π cu o serie de compuși (de exemplu, se

pot separa substanţe care diferă între ele prin numărul sau poziţia dublelor legături (v. cap. 3.1.5).

După Barrett şi colab. [42], pasta se poate prepara prin amestecarea a 30 g silicagel cu 60 ml soluţie apoasă 12,5% de azotat de argint. Numeroşi autori descriu utilizarea straturilor de silicagel impregnate cu azotat de argint pentru separarea unui număr mare de grupe de substanţe: steroide [43—46], lipide [42, 45, 47—49], olefine [50], pesticide [36], 2,4-dinitrofenilhidrazone [51], rezine, terpene [52], esteri şi acizi nesaturaţi [45, 53], ioni anorganici [54] etc. (v. Cap. 11). Se recomandă evitarea impregnării straturilor cu $AgNO_3$ prin pulverizare; rezultate bune se obţin numai prin adăugarea sa sub formă de soluţie la prepararea pastei [9, 53].

Acidul boric şi sărurile sale se utilizează atît ca soluţii tampon, cît şi ca agenţi de complexare. Halmekoski [55] recomadă prepararea pastei din 30 g silicagel G cu 65 ml apă care conţin 0,01 mol borax. Alţi autori [56] recomandă prepararea pastei din 25 g silicagel G şi 50 ml soluţie apoasă de borax 5,6%. Straturile impregnate cu acid boric şi borax se utilizează în special pentru separarea alcaloizilor [9, 57], a hidraţilor de carbon [35, 58], a acizilor fenolcarboxilici [55], a derivaţilor adrenalinei [59], a glicozizilor digitalici [60, 61], a polihidroxiacizilor [56] şi derivaţilor barbiturici [62] etc.

Halmekoski [55, 59] utilizează molibdatul şi tungstatul de sodiu ca agenţi de complexare pentru acizii fenolcarboxilici şi pentru unii derivaţi de adrenalină.

Moris [56] utilizează ca agenţi de complexare, soluţii apoase 5% de acetat bazic de plumb, metavanadat de sodiu şi arseniat de sodiu. Raportul silicagel — soluţie este acelaşi, 1 : 2. Asemenea straturi au fost folosite pentru separarea polihidroxiacizilor cu catenă lungă.

Berg şi colab. [63] folosesc straturi impregnate cu acid picric, uree, azotat de argint, cafeină etc., pentru separarea compuşilor policiclici aromatici. Împregnarea se face la fel ca şi în celelalte cazuri, prin adăugarea substanţelor sub formă de soluţie la prepararea pastei, raportul silicagel — agent de complexare fiind în medie de 10 : 1.

Pastă de silicagel cu adaos de acizi. Pentru a urmări separarea anumitor substanţe organice necunoscute, se obişnuieşte, la prepararea pastei de silicagel să se adauge acid sulfuric. Asemenea straturi permit identificarea directă a substanţelor organice prin încălzirea cromatogramelor la circa 150—200°C. În acest scop, se amestecă 35 g silicagel G (Merck) cu 100 ml soluţie cloroformmetanol (7 : 3), la care se adaugă 2,5 ml acid sulfuric concentrat. Se omogenizează pasta şi se aplică pe plăcile de sticlă cu ajutorul unuia din dispozitivele de întindere a adsorbanţilor [9, 64]. Se folosesc, de ase-

Scanned with OKEN Scanner

menea, straturi îmbibate cu acizi pentru separarea unor substanțe acide [21] și a unor derivați cloruraţi. Acidul oxalic se adaugă, ca atare, sub formă de soluție apoasă 0,5 N, sau în amestec cu un conținut mic de acid sulfuric circa 2% [25].

Pastă de silicagel cu liant amidon. Dacă, în unele separări cromatografice, prezența gipsului deranjează datorită adsorbției puternice a uneia sau a mai multor substanțe din proba de cercetat [64], se recomandă să se folosească straturi cu silicagel H, sau să se înlocuiască gipsul cu amidon. Cantitatea de amidon adăugată ca liant este, în general, mai mică decît cea de gips, circa 2—2,5%.

Kirchner [9] recomandă prepararea pastei de silicagel cu adaos de amidon și substanțe fluorescente, în modul următor: se amestecă într-un flacon conic 19 g silicagel cu 0,5 g amidon; 38 ml apă și 0,38 g sulfură de zinc și 0,38 g sulfură de cadmiu. Amestecul se încălzește pe baia de apă, agitînd ușor cu bagheta pînă cînd amidonul este complet gelatinizat. Pasta este stabilă cîteva zile la temperatura camerei.

7.2.2. *Prepararea pastei de oxid de aluminiu*

Modul de preparare al pastei de oxid de aluminiu, este asemănător cu cel descris la prepararea pastei de silicagel. De exemplu, oxidul de aluminiu G (Merck) se prepară ca pastă amestecînd o parte adsorbant cu două părți apă (25 : 50, g/ml). Alte sorturi de oxid de aluminiu, de exemplu Camag, se prepară sub formă de pastă, în proporții asemănătoare (20 : 50, g/ml).

Pentru straturi utilizate în scop preparativ (circa 1 mm grosime), Korzun [65] recomandă prepararea unei paste mai vîscoase formate din 120 g oxid de aluminiu G și 110 ml apă. Honegger [66] folosește pentru straturi de peste 2 mm grosime, un raport adsorbant — apă de 1 : 0,9.

Ca și în cazul silicagelului, se pot prepara în mod asemănător straturi de oxid de aluminiu cu adaos de substanțe fluorescente, straturi acidifiate, alcalinizate, cu liant amidon, fără liant, cu agenți complexanți etc. Ca substanțe fluorescente se pot folosi cele indicate la prepararea pastei de silicagel. Pentru prepararea unor straturi acide de oxid de aluminiu, folosite la separarea alcaloizilor [67, 68], steroizilor [69], cumarinei [70] etc., se prepară pasta de oxid de aluminiu G în HCl 0,2 N, în loc de apă. Sau, plecînd de la oxid de aluminiu de diferite sorturi, se aduce pasta la $pH \simeq 4$ cu soluții de acid clorhidric [71]. Oxidul de aluminiu bazic se furnizează de obicei sub această formă sau se poate prepara din oxid de aluminiu

Scanned with OKEN Scanner

acid adăugînd pentru obținerea pastei în loc de apă, soluție de KOH 1% (1 : 2, g/ml) [72].

Amidonul se adaugă ca liant în pasta de oxid de aluminiu ca și în cazul silicagelului, în proporție de circa 5%, la cald. Straturile fără liant pot fi preparate și cu oxid de aluminiu, cu condiția ca pulberea să fie foarte fină.

Agenții complexanți sînt folosiți în măsură mai mică decît în cazul silicagelului. Moris [56] utilizează boraxul la prepararea pastei de oxid de aluminiu G, în același raport ca și la pasta de silicagel. Straturile obținute au fost folosite pentru separarea metilesterilor izomeri ai acizilor polihidroxilici cu catene lungi. Urbach [51] indică folosirea azotatului de argint pentru separarea unor rășini, adăugat în proporție de circa 20%, față de adsorbant.

7.2.3. *Prepararea pastei de kieselgur*

Pasta de kieselgur G se prepară în mod analog cu pasta de silicagel și oxid de aluminiu. Se amestecă o parte kieselgur G cu 2 părți apă și se agită cîteva secunde pînă se obține o omogenizare perfectă [25]. Straturile de kieselgur tamponate, folosite, de exemplu, la separarea zaharurilor se fac la fel cu cele descrise la silicagel. Prey și colab. [73] folosesc, în același scop, un amestec kieselgur — silicagel (4 : 1) și prepară pasta cu soluție tampon acetat de sodiu 0,02 M, obținînd rezultate mai bune pentru separarea zaharurilor.

Prepararea pastei altor adsorbanți anorganici folosiți în cazuri mai rare, se face în mod asemănător ca la adsorbanții principali. Raportul adsorbant-apă diferă în limite înguste și se poate stabili prin apreciere, acolo unde nu sînt date valori precise.

7.2.4. *Prepararea pastei din pulbere de celuloză*

Pastă obișnuită din pulbere de celuloză. Pulberea de celuloză, cu sau fără gips, se prepară ca pastă prin amestecare cu apă, la fel ca și adsorbanții anorganici. Deoarece în acest caz este dificil să se obțină o pastă omogenă, se recomandă omogenizarea amestecului timp de 30 s pînă la 1 min, cu un agitator mecanic. Raportul pulbere de celuloză-apă, variază între anumite limite, în funcție de sortul de celuloză: 10 : 60—80 (Serva); 10 : 65 (Camag); 30 : 75 (Whatman) etc. [74—77].

Pasta din pulbere de celuloză poate fi preparată și cu alți dizolvanți, nu numai cu apă, la fel ca și în cazul celorlalți adsorbanți.

Randerath [78] indică prepararea pastei, prin amestecarea a 10 g pulbere de celuloză cu 50—60 ml acetonă; Pfeiffer [4] utilizează alcoolul metilic pentru prepararea pastei. De asemenea, se recomandă uneori utilizarea pastei din pulbere de celuloză cu adaos de poliesteri, poliamide etc. Knappe [79] recomandă amestecarea a 15 g pulbere de celuloză (MN 300 G) cu 6,2 g soluție de poliester (80—82% în metilglicol) și 0,05 g dietilditiouree sodică, 35 ml apă și 35 ml alcool. Impregnarea pulberii de celuloză cu poliamidă este descrisă la prepararea pastei din poliamide (v. p. 116).

Pastă din pulbere de celuloză cu liant amidon. După Roessel [91], se adaugă 0,3 g amidon în 90 ml apă la fierbere și se amestecă pînă la gelatinizarea uniformă a amidonului. Se adaugă apoi, 15 g pulbere de celuloză S.S. și se omogenizează cu ajutorul unui agitator mecanic, circa 30 s.

Pastă din pulbere de celuloză purificată în prealabil pentru îndepărtarea unor impurități (cationi etc.). Schweiger [81] tratează, în prealabil, pulberea de celuloză cu o soluție 0,05% acid etilendiaminotetraacetic, pentru îndepărtarea cationilor. Hammerschmidt [82] refluxează amestecul celuloză — acid azotic 1,5% la 50°C, timp de 2 ore, în același scop. În continuare, celuloza este separată prin filtrare și spălată bine cu apă, apoi se prepară pasta în mod obișnuit cu apă. Madaeva și colab. [83] spală, în prealabil, pulberea de celuloză cu HCl 2%.

Pastă de dietilaminoetil-celuloză (DEAE-celuloză). Pasta se poate prepara prin amestecarea a 10 g DEAE-celuloză cu 60—80 ml apă, amestecul se omogenizează prin agitare mecanică. Coffei și colab. [84] prepară pasta de DEAE-celuloză cu 5% gips, amestecînd părți egale din DEAE-celuloză — MN 300 și DEAE-celuloză — MN 300 G (10% gips) cu adaos de apă în proporția indicată mai sus. Pentru îndepărtarea unor impurități care interferă, se spală DEAE-celuloza prin fierbere 30 min cu HCl 1 N (10 : 250, g/ml). Celuloza se separă prin filtrare și se repetă operația de 4 ori. După ultima filtrare, se spală cu apă pînă la reacție neutră [96]. DEAE-celuloza este folosită pentru separarea unor nucleotide [84—86], acizi aminați [87] și hemoglobine [10].

Pastă de celuloză — ECTEOLA. Randerath [88, 89] folosește pentru prepararea pastei, 10 g celuloză ECTEOLA amestecată prin agitare mecanică cu 60—70 ml apă. Se utilizează la separarea nucleotidelor și a unor zaharuri [90].

Pastă de celuloză acetilată. Se amestecă 10 g celuloză acetilată cu 55 ml etanol (96%) și se omogenizează prin agitare mecanică, timp de 1—2 min. Se folosește pentru separarea hidrocarburilor

Scanned with OKEN Scanner

aromatice [91—92], a cetoacizilor [93], a 2,4-dinitrofenilhidrazonelor [94], a unor antioxidanți [95] și a unor heterociclici cu azot [96].

Celuloza acetilată poate fi preparată, la nevoie, după o rețetă dată de Wieland [97]: 30 g pulbere de celuloză uscată 15—30 min la 110°C și 5 ore în exsicator (pe acid sulfuric), se tratează cu un amestec format din 22 ml anhidridă acetică, 675 ml benzen și 0,9 ml acid sulfuric concentrat. Amestecul se încălzește la 70°C, timp de 9 ore, sub agitare. Celuloza acetilată rezultată, se filtrează și se spală cu metanol. Se lasă să stea în metanol încă 5 ore, apoi se filtrează și se spală cu eter. Produsul rezultat se usucă la 90°C.

Kirchner [9] descrie prepararea celulozei acetilate, în felul următor: se amestecă 200 g pulbere de celuloză cu 1700 ml tiofen (fără benzen), 800 ml anhidridă acetică redistilată, 4 g acid sulfuric 92% și 4 g acid percloric 72%. Amestecul se lasă, timp de 24 ore, la 18°C. Celuloza acetilată rezultată, se separă prin filtrare; se lasă să stea în etanol 24 ore, agitînd din cînd în cînd, se spală din nou cu etanol și apă și se ține încă 2 ore în apă. Se filtrează și se usucă la aer.

Pastă de celuloză fosforată. Pentru prepararea pastei, se amestecă 10 g celuloză MN-300 P, cu 50 ml apă și se omogenizează prin agitare mecanică. Se folosește pentru separarea bazelor nucleotide [98], a tiaminei și a fosfaților săi [10].

La fel ca și celuloza acetilată, și celuloza fosforită poate fi preparată cînd e nevoie. După Randerath [98], se tratează 20 g pulbere de celuloză cu 120 ml soluție 3% polietilenimină; se lasă în contact circa 5 min, agitînd între timp. Se diluează apoi cu 200 ml apă, se filtrează și se spală cu apă distilată. Celuloza rezultată se agită apoi cu 120 ml soluție apoasă 20% de metafosfat de sodiu, timp de 5 min. Se filtrează din nou și se spală cu 120 ml HCl 0,25%, apoi cu circa 150 ml apă. Produsul rezultat se prepară ca pastă prin amestecare cu 80 ml apă.

Pastă de polietilenimin-celuloză (celuloză-PEI). Se folosește pentru separarea nucleotidelor [10, 30]. Pasta se prepară prin amestecarea a circa 10 g celuloză-PEI, cu 60—70 ml apă care se omogenizează apoi prin agitare. Se poate prepara în modul următor: 3 g soluție polietilenimină 50%, se dizolvă în 6 ml apă, se neutralizează cu HCl concentrat și se diluează pînă la 15 ml cu apă. Se dializează timp de 20 ore, schimbînd apa de la dializă după 4 și 8 ore și se diluează apoi la 150 ml cu apă. Pulbere de celuloză, 15 g, se amestecă cu 90 ml soluție dializată și se agită pentru prepararea pastei.

Scanned with OKEN Scanner

Pastă de carboximetil-celuloză (MN-300-C.M.). Se amestecă 8 g C.M.-MN-300 cu 2 g celuloză MN—300 și 70 ml apă distilată și se agită mecanic circa 1 min [10]. C.M.-MN-300/G, se amestecă cu apă pentru prepararea pastei, în proporție de 15 : 90 (g/ml).

7.2.5. *Prepararea pastei de poliamide*

Prepararea pastei de poliamide este diferită, în funcție de tipul de poliamidă [9, 10, 38, 99 — 101]. Astfel, pasta de poliamidă Merck se prepară prin amestecarea a 5 g substanță cu 45 ml metanol și agitare energică. Poliamida Woelm se prepară ca pastă prin amestecarea a 5 g substanță cu 45 ml metanol-cloroform (3 : 2). [10]. Pasta din poliamida Hostalen S, se prepară prin amestecarea a 20 g substanță cu 50 ml etanol-apă (1 : 1). După Wang și colab. [102], pasta se prepară în condiții bune prin amestecarea a 20 g poliamidă cu 100 ml acid formic (80%). În general, preparatele de poliamidă nu conțin lianți.

Metche și colab. [103] indică prepararea pastei de poliamidă cu adaos de amidon. În acest scop, se adaugă 1,5 g amidon de orez în 54 ml apă fiartă și se agită 2—3 min. Se diluează cu 30 ml apă și se încălzește la 80°C. După răcire la 50—60°C, se adaugă 9,5 ml poliamidă și se omogenizează prin agitare circa 30 s. Pasta se aplică apoi pe plăci, cu ajutorul dispozitivelor de întindere a adsorbanților.

Bark și colab. [104] folosesc celuloza impregnată cu poliamidă pentru separarea unor alchilfenoli și a esterilor acidului galic. Pentru prepararea amestecului, ei dizolvă poliamida (nailon 66) în acid formic (90%), în proporție de circa 10% și soluția este lăsată în repaus timp de cîteva zile. Se filtrează și se amestecă cu pulbere de celuloză; 13,5 g pulbere de celuloză se tratează cu 11 ml soluție filtrată și se adaugă acid formic (90%) pînă la un volum total de circa 80—85 ml, agitînd continuu. Pasta obținută se aplică în modul obișnuit pe plăcile de sticlă.

Ardelt și colab. [105] utilizează pentru separarea tioureii și a unor compuși înrudiți, un amestec de rășini formaldehidice și uree. Pentru prepararea pastei, se amestecă 7 g rășină cu 15 ml metanol-apă (1 : 6) și se agită pînă la omogenizare.

Birkofer [106] prepară straturi de poliacrilonitril și perlon în amestec, în raportul 7 : 2. Pasta se prepară prin tratarea a 10 g amestec cu 40 ml soluție fosfat de calciu 0,5 M. Straturile au fost folosite pentru separarea unor antocianine.

Scanned with OKEN Scanner

Într-un articol recent, Zawta și colab. [107[analizează diferite aspecte legate de prepararea straturilor de poliamidă și de comportarea lor la separarea și identificarea substanțelor.

7.3. Aplicarea pastei de adsorbanți pe plăcile de sticlă

Pasta adsorbanților, preparată după indicațiile date în cap. 7.2., se întinde pe plăcile de sticlă curățate și uscate în prealabil, conform indicațiilor de la cap. 7.1. Straturi omogene de adsorbanți se obțin prin întinderea pastelor cu ajutorul dispozitivelor speciale prezentate în cap. 6.

Numeroși autori [12, 21, 108—110] descriu diferite alte moduri de întindere a adsorbantului pe plăci. Un procedeu constă în scufundarea plăcilor de sticlă în pasta adsorbanților respectivi [108, 110]. Pentru a evita acoperirea plăcilor de sticlă cu adsorbant pe ambele fețe, se lipesc cîte două plăci curate, avînd aceeași dimensiune și, apoi, se introduc în pasta adsorbantului dorit. Se scot, se dezlipesc și se așază în poziție orizontală, pentru uscare. Un alt procedeu constă în pulverizarea pastei de adsorbant pe suprafața plăcii de sticlă [9, 10, 25, 68, 103]. În acest scop, pasta trebuie diluată cu apă (circa 1 : 1; 1 : 2, vol./vol). O altă metodă este aplicarea unei anumite cantități de pastă pe placa de sticlă cu pipeta și nivelarea cu ajutorul unei baghete sau prin adaptarea plăcii la un vibrator mecanic, timp de 5 min [111]. În toate aceste cazuri, se pot obține straturi cu grosime inegală care pot duce la diferențe în separarea substanțelor.

În ultimii ani, se comercializează plăci gata preparate cu adsorbanți diferiți și standardizate pentru diferite dimensiuni și grosimi de strat. De asemenea, se utilizează foi de aluminiu, foi de poliamide, de poliesteri și de alte materiale plastice [112—115] (v. cap. 3)

7.4. Uscarea și activarea plăcilor cromatografice

Deși în practică cele două operații — de uscare și activare — se confundă deseori, ele trebuie delimitate și executate corect. Uscarea propriu-zisă a straturilor înseamnă pierderea unei anumite cantități de apă din adsorbantul umed, pînă la întărirea stratului. Un asemenea grad de uscare se poate obține la temperatura camerei, în 1—2 ore de la aplicarea pastei de adsorbant pe plăcile de sticlă. Astfel de plăci cromatografice cu un conținut mare de apă, pot fi folosite ca atare, sau după o uscare mai avansată (circa 18 ore, la

Scanned with OKEN Scanner

temperatura camerei, sau 30 min — 1 oră la 50—60°C) pentru separări prin cromatografie în strat subțire de repartiție. Separarea, de exemplu, a unor substanțe hidrofile pe pulbere de celuloză sau silicagel se face pe straturi neactivate.

Activarea, înseamnă creșterea capacității de adsorbție a straturilor prin eliberarea centrelor active ale suprafeței adsorbantului. La silicagel, pentru a elibera complet grupele —OH proprii, active în adsorbție, este necesară încălzirea la 120°C. La temperaturi mai joase, acestea sînt blocate prin legarea lor de molecule de apă. (v. cap. 3). În cazul oxidului de aluminiu, abia la 300—400°C se obține o activare maximă a suprafeței. Ca atare, în funcție de temperatură și de timpul de încălzire, se vor obține straturi cu grade diferite de activare. Straturile cu un grad de activare avansat se folosesc pentru separarea substanțelor mai mult sau mai puțin hidrofobe, prin cromatografie în strat subțire de adsorbție.

Gradul de uscare și de activare a straturilor de adsorbanți trebuie deci realizat ținînd seama de natura adsorbantului (organic sau anorganic) și de structura substanțelor de separat (după cum acestea se pretează la o separare mai bună prin repartiție lichid-lichid, sau prin adsorbție).

În general, straturile de silicagel folosite pentru separări prin repartiție lichid-lichid, sînt utilizabile după uscare la temperatura camerei, timp de 17—18 ore. Straturile de pulbere de celuloză simplă sau modificată se usucă în mod asemănător prin păstrare la temperatura camerei, în aer liber, timp de 17—18 ore sau prin uscare în etuvă, la temperatură joasă (50°C), timp de 40 min [9, 10, 25].

Pentru straturi de silicagel cu un grad de activare satisfăcător se recomandă, în mod normal, încălzirea la 110°C, timp de 30 min — 1 oră [10, 25]. Indicația se referă la straturi cu o grosime medie de 250 μm. Pentru straturi mai grose, utilizate în cromatografia preparativă, este necesar un timp de activare mai lung. Halpaap [6] recomandă ca straturile de silicagel cu o grosime de 1,5—2 mm, să se usuce în aer pînă se întăresc, apoi să se activeze la 120°C timp de 3 ore. Korzun [65] recomandă pentru straturile de silicagel de 1 mm grosime, să se usuce 16—17 ore la temperatura camerei și să se activeze la 80°C timp de 2—4 ore.

În cazul plăcilor cromatografice cu oxid de aluminiu, se recomandă, pentru un grad de activare mediu, încălzirea la 200° C, timp de 30 min — 1 oră.

Straturile de oxid de aluminiu G, impregnate cu azotat de argint, se activează după indicația lui Urbach, prin ridicarea treptată a temperaturii: se țin 20 min în etuvă variind treptat temperatura de la 115 la 135°C [60].

Scanned with OKEN Scanner

Este necesar să se țină seama și de natura organică sau anorganică a liantului prezent; în cazurile cînd este folosit amidonul în acest scop, încălzirea la temperatură ridicată duce la degradarea lui și, ca urmare, și a straturilor. Se recomandă ca plăcile cromatografice după ce au fost activte să se introducă imediat într-un exsicator (cu substanță deshidratantă) sau într-un dispozitiv special de păstrare, cum este cel prezentat în fig. 22.

În operația de uscare și activare a plăcilor cromatografice este important să se țină seama de natura liantului. În cazurile cînd adsorbantul are ca liant gips, este absolut necesar ca plăcile cromatografice să se lase la temperatura camerei o oră de la întinderea pastei pe plăcile de sticlă. Această recomandare se explică prin aceea că sulfatul de calciu adăugat ca liant este sub formă de semihidrat ($CaSO_4 \cdot 1/2\ H_2O$), iar capacitatea sa de liant este legată de conversia la gips ($CaSO_4 \cdot 2\ H_2O$), prin cristalizarea lentă cu 2 molecule de apă [116]. Introducerea directă în etuvă, la temperatură ridicată, duce la fisurarea straturilor și dezlipirea lor de placa de sticlă. În cazul folosirii amidonului ca liant, straturile se pot introduce în etuvă imediat după întărirea lor, evitînd însă temperaturi de peste 100°C, pentru a evita degradarea liantului și ca urmare și a straturilor.

În această formă, plăcile cromotografice sînt folosite pentru aplicarea pe suprafața lor a substanțelor de separat.

Bibliografie

1. *Kirchner, J. G., Miller, J. M., Keller, G. J.* Anal. Chem., **23**, 1951, p. 420.
2. *Stahl, E.* Chemiker-Ztg., **82**, 1958, p. 323.
3. *Wasiky, R.* Anal. Chem., **34**, 1962, p. 1346.
4. *Peifer, J. J.* Mikrochim. Acta, **1962**, p. 529.
5. *Hofmann, A. F.* Anal. Biochem., **3**, 1962, p. 145.
6. *Halpaap, H.* Chem.-Ingr. Techn., **35**, 1963, p. 488.
7. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumsbuch, Ed. I, Berlin, Springer Verlag, 1962.
8. *Stahl, E., Frezenius, Z.* Anal. Chem., **236**, 1968, p. 294.
9. *Kirchner, J. G.* Thin-Layer Chromatography Technique of Organic Chemistry, vol. XII, editor Weissberger A. New York, Interscience Publishers, 1967, p. 27.
10. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, Sec. Ed., New York, Academic Press, 1966, p. 21, 110.
11. *Lehmann, G., Martinod, P.* C.A., **68**, 1968, 16430 e.
12. *Hörhammer, L., Wagner, H., Bittner, G.* Deut. Apotheker-Ztg., **14**, 1962, p. 148.
13. *Duncan, G. R.* J. Chromatog., **8**, 1962, p. 37.

Scanned with OKEN Scanner

14. *Sease, J. W.*, J. Amer. Chem. Soc., **69**, 1947, p. 2242.
15. *Sease, J. W.* J. Amer. Chem. Soc., **70**, 1948, p. 3630.
16. *Reitsema, R. H.* Anal. Chem., 1954, **26**, 1954, p. 960.
17. *Brown, J. L., Johnston, J. M.* J. Lipid. Res., **3**, 1962, p. 480.
18. *Tschesche, R., Biernoth, G., Wulff, G.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 342.
19. *Smith, L. L., Foell, T.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 339.
20. *Tamaș-Pelloni, V., Voinescu, R., Mihalaș, E., Sterescu, M., Simionovici, R.* Studii și cercetări C.D.I.C.P., **3**, 1968, p. 164.
21. *Stahl, E.* Arch. Pharm., **292/64**, 1959, p. 411.
22. *Teichert, K., Mutschler, E., Rochelmeyer, H.* Deut. Apotheker-Ztg., **100**, 1960, p. 477.
23. *Teichert, K., Mutschler, E., Rochelmeyer, H.* Deut. Apotheker-Ztg., **100**, 1960, p. 283.
24. *Skipski, V. P., Peterson, R. F., Barclay, M.* J. Lipid. Res., **3**, 1962, p. 467.
25. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumsbuch, Ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
26. *Phillipson, J. P., Shellard, E. Y.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 427.
27. *Genest, K.* și colab. Can. J. Pharm. Sci., **3**, 1968, p. 77.
28. *Egger, K.* J. Chromatog., **5**, 1961, p. 74.
29. *Stahl, E., Schorn, P. J.* Naturwissenschaften, **49**, 1962, p. 14.
30. *Pataki, G.* Dünnschicht-Chromatographie in der Aminosäure- und Peptid-Chemie, Berlin, Walter de Gruiter, 1966.
31. *Niwaguchi, T., Inone, T.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 510.
32. *Bancher, E., Scherz, H., Kaindl, K.* Mikrochim. Ichnoanal. Acta, **1964**, p. 652.
33. *Ragazzi, E., Veronese, G.* Farmaco, Ed. Prat., **18**, 1963, p. 152.
34. *Shannou, J. C.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 307.
35. *Cotte, J., Mathieu, M., Collombel, C.* Pathol. Biol. Semaine Hop., **12**, p. 747.
36. *Blinn, R. C.* J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, **46**, 1963, p. 952.
37. *Cima, L., Mantovan, R.* Farmaco, Ed. Prat., **17**, 1962, p. 473.
38. *Hung-Chen Chiang Yu Lin, Ying-Chang Wu.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 161.
39. *Tompson, A. C.* J. Chromatog., **25**, 1966, p. 13.
40. *Horrocks, L. A.* J. Amer. Oil Chem. Soc., **40**, 1963, p. 235.
41. *Ziminski, T., Borowski, E.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 480.
42. *Barrett, C. B., Dallas, M. S. J., Padley, F. B.* Chem. Ind., **1962**, p. 1050.
43. *Avigan, J., Goodman, D. S., Steinberg, D.* J. Lipid. Res., **4**, 1963, p. 100.
44. *Doorenbos, N. J., Sharma, R. K.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 393.
45. *De Boer, F. C.* Z. Anal. Chem., **206**, 1964, p. 308.
46. *Copius-Peereboom, J. W.* Z. Anal. Chem., **205**, 1964, p. 325.
47. *Bergel'son, L. D., Dyatlovitskaya, E. V., Voronkova, V. V.* Izv. Akad. Nauk SSSR., Otd. Khim. Nauk, 1963, p. 954.
48. *Cornelius, J. A., Shone, G.* Chem. Ind., 1963, p. 1246.
49. *Wagner, H., Goetschel, J. D., Lesch, P.* Helv. Chim. Acta, **46**, 1963, p. 2986.
50. *Markl, P., Hecht, F.* Mikrochim. Ichnoanal. Acta, **1963**, p. 970.
51. *Urbach, G.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 196.
52. *Novin, T., Westfelt, L.* Acta Chem. Scand., **17**, 1963, p. 1828.
53. *Parihar, D. B., Sharma, S. P., Verma, K. K.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 556.
54. *Lesigang-Buchtela, M.* Oesterr. Chemiker-Ztg., **67**, 1966, p. 115.
55. *Halmekoski, J.* Suomen Kemistilehti, **35** B, 1962, p. 39.

Scanned with OKEN Scanner

56. *Morris, L. J.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 321.
57. *Schreiber, K., Roensch, H.* Tetrahedron Letters, 1963, p. 329.
58. *Pastuska, G.* Z. Anal. Chem., **179**, 1961, p. 427.
59. *Halmekoski, J.* Suomen Kemistilehti, **36 B**, 1963, p. 58.
60. *Reichlet, J., Pitra, J.* Česk. Farm., **12**, 1963, p. 416.
61. *Bican-Fister, T.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 91.
62. *Porges, E.* Bratislav Lekarske Listy, **44 I**, 1964, p. 3.
63. *Berg, A., Lam, J.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 157.
64. *Potop, I., Sterescu, M., Boeru, N., Tamaş-Pelloni, V., Holban, R., Ghenea, E.* Neoplasma, **17**, 1970, p. 655.
65. *Korzun, B. P., Dorfman, L., Brody, S. M.* Anal. Chem., **35**, 1963, p. 950.
66. *Honegger, C. G.* Helv. Chim. Acta, **45**, 1962, p. 1409.
67. *Tschesche, R., Kometani, K., Kowitz, F., Snatze, G.* Chem. Ber., **94**, 1961, p. 3327.
68. *Poethke, W., Kinze, W.* Pharm. Zentralhalle, **101**, 1962, p. 685.
69. *Schwarz, W., Syhora, K.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., **28**, 1963, p. 101.
70. *Chernobai, V. T., Kolesnikov, D. G.* Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R., **133**, 1960, p. 233.
71. *Vacíková, A., Felt, V., Maliková, J.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 301.
72. *Groeger, D., Erge, D.* Pharmazie, **18**, 1963, p. 346.
73. *Prey, V., Scherz, H., Baucher, E.* Mikrochim. Ichnoanal. Acta, **1963**, p. 567.
74. *Nagasawa, H. T., Froser, P. S., Elberling, J. A.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 300.
75. *Pristoupil, T. I., Kramlová, M., Sterbiková, J.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 367.
76. *Heathcotte, J. G., Howarth, C.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 84.
77. *Gültbauer, F.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 104.
78. *Randerath, K.* Nature, **205**, 1965, p. 908.
79. *Knappe, E., Peteri, D., Rohdewald, I.* Z. Anal. Chem., **197**, 1963, p. 364.
80. *Roessel, T.* Z. Anal. Chem., **197**, 1963, p. 333.
81. *Schweiger, A.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 374.
82. *Hammerschmidt, H., Mueller, M.* Papier, **17**, 1963, p. 448.
83. *Madaeva, O. S., Ryzhkova, V. K.* Med. Prom. SSSR, **17**, 1963, p. 44.
84. *Coffey, R. G., Newburgh, R. W.* J. Chromatog., **11**, 1963, p. 376.
85. *Bondivenne, M., Busch, N.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 349.
86. *Randerath, K.* J. Chromatog., **11**, 1963, p. 20.
87. *De la Llosa, P., Tertrin, C., Jutisz, M.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 136.
88. *Randerath, K.,* Nature, **194**, 1962, p. 768.
89. *Panteleeva, N. S.,* Vestn. Leningr. Univ. Ser. Biol., **19**, 1964, p. 73.
90. *Dietrich, C. P., Dietrich, S. M. C., Pontis, H. G.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 277.
91. *Sawiki, E., Stanley, J. W., Elbert, W. C., Pfaff, J. D.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 497.
92. *White, R. H., Howard, J.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 108.
93. *Rink, M., Hermann, S.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 523.
94. *Rink, M., Hermann, S.* J. Chromatog., **2**, 1963, p. 249.
95. *Salo, T., Salminen, K. Z.* Lebensm. Untersuch. Forsch., **125**, 1964, p. 167.
96. *Sawicki, E., Stanley, T. W., Pfaff, J. D., Elbert, W. C.* Anal. Chim. Acta, **31**, 1964, p. 359.
97. *Wieland, T., Lueben, G., Determann, H.* Experientia, **18**, 1962, p. 432.
98. *Randerath, E., Randerath, K.* J. Chromatog., **10**, 1963, p. 509.
99. *Peuzes, L., Menzel, P., Oertel, G. W.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 189.

Scanned with OKEN Scanner

100. *Wang, R. T., Chou, S. S.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 522.
101. *Hung-Chen Chiang.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 203.
102. *Wang, K. T., Wang, I. S. Y.* J. Chromatog., **24**, 1966, p. 458.
103. *Metche, M., Haluk, J. P., Nguyen, Q. H., Urion, E.* Bull. Soc. Chim. France, **1963**, p. 1080.
104. *Bark, L. S., Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 109.
105. *Ardelt, H. W., Lange, P.* Z. Chem., **3**, 1963, p. 266.
106. *Birkofer, L., Kaiser, Chr., Donika, M.* J. Chromatog., **22**, 1966, p. 303.
107. *Zawta, B., Hoelzel, W.* Pharmazie, **23**, 1968, p. 296.
108. *Demole, E.* J. Chromatog., **1**, 1958, p. 24.
109. *Bhandari, P. R., Lerch, B., Wohlleben, G.* Pharm. Ztg. Ver. Apotheker-Ztg., **107**, 1962, p. 1618.
110. *Hörhammer, L., Wagner, H., Kilger, F.* Deut. Apotheker-Ztg., **15**, 1963, p. 1.
111. *Breccia, A., Spalletti, F.* Nature, **198**, 1963, p. 756.
112. *Rabek, V.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 186.
113. *Sawicki, E., Stanley, T. W., Johnson, H.* Microchim. J., 8, 1964, p. 257.
114. *Bruemmer, J. M.* Brotgebaeck, **20**, 1966, p. 123.
115. *Petit, J., Berger, J. A., Gaillard, G., Meyniel, G.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 167.
116. *Kirk-Othmer.* Encyclopedia of Chemical Technology, Sec. Ed., vol. 2, p. 767, 771; vol. 3, p. 443, New York, Interscience Encyclopedia.

8. Separarea cromatografică a substanţelor. Identificarea şi dozarea lor

În acest capitol, se vor trata detaliat toate operaţiile necesare pentru cromatografierea propriu-zisă a substanţelor, şi de asemenea identificarea şi dozarea substanţelor separate şi păstrarea cromatogramelor.

8.1. Separarea cromatografică

8.1.1. *Aplicarea substanţelor pe placa cromatografică*

Pentru aplicarea substanţelor sau a amestecului de substanţe pe straturile de adsorbanţi există mai multe tehnici care pot fi practicate, rezoluţia separării depinzînd, în mare măsură, de felul cum

Scanned with OKEN Scanner

au fost aplicate probele pe placa cromatografică. De obicei, substanţele se aplică sub formă de soluţie, dacă este posibil într-un dizolvant uşor volatil folosind în acest scop micropipete calibrate, tuburi capilare sau alte dispozitive speciale descrise în cap. 6. Se recomandă evitarea dizolvanţilor greu volatili pentru dizolvarea substanţelor de separat deoarece, la aplicarea soluţiei pe stratul de adsorbant, aceasta difuzează pe suprafaţă ducînd la o creştere a ariei zonei de substanţă la start. Acest fapt afectează atît forma petei de substanţă după separare (se obţin pete cu striuri în lungul direcţiei de migrare [1, 2]), cît şi valoarea R_f, în special atunci cînd se folosesc pentru developare dizolvanţi slab polari.

Folosirea dizolvanţilor volatili prezintă un dublu avantaj: pe de o parte evită efectele supărătoare amintite, iar pe de altă parte, permite creşterea concentraţiei de substanţă în punctul de aplicare prin evaporarea rapidă a dizolvantului purtător. În toate cazurile este necesară îndepărtarea completă a dizolvantului folosit pentru aplicarea probelor la start.

Suprafaţa zonei de substanţă aplicată trebuie să fie cît mai mică pentru ca efectele difuziunii să fie cît mai puţin simţite. Pentru aceasta, soluţia probei se aplică în volume foarte mici şi se evaporă dizolvantul de fiecare dată, urmărind ca aria petei la start să nu depăşească 5 mm diametru, la pipetarea sub formă de picătură, sau 2—3 mm lăţime, la aplicarea soluţiei sub formă liniară. În cazurile cînd trebuie să se aplice cantităţi mari dintr-o probă anumită, se preferă soluţii mai concentrate, astfel încît volumul care se aplică pe linia de start să fie cît mai mic, evitînd în acest mod pipetarea şi evaporarea repetată şi prin aceasta creşterea suprafeţei zonei de substanţă la start. Acest procedeu este important în special în cazul soluţiilor obţinute cu dizolvanţi mai greu volatili. Evaporarea dizolvantului se poate face prin suflarea unui curent de aer rece sau cald, sau dacă substanţele de separat nu sînt termolabile [3] prin încălzirea plăcii cromatografice înainte de a aplica soluţia probei.

Aplicarea substanţelor pe placa cromatografică implică executarea unor operaţii descrise în cele ce urmează.

Prepararea soluţiilor etalon şi a soluţiilor din probele care urmează a fi separate. Soluţiile etalon se prepară din acele substanţe a căror prezenţă în amestecul de separat este sigură sau presupusă. Substanţele folosite în acest scop trebuie să fie pure, iar concentraţia lor în soluţie variază în funcţie de solubilitatea în dizolvantul ales şi de sensibilitatea faţă de reactivii de identificare, urmărind ca volumul soluţiei aplicate la start să fie cît mai mic. De exemplu, pentru substanţele care pot fi puse în evidenţă la 0,1 μg,

Scanned with OKEN Scanner

concentrația soluției este de aproximativ 0,1 μg/2—5 μl, iar în cazurile cînd sensibilitatea acestora față de reactivii de identificare este mult mai mică concentrația soluțiilor poate crește de 10 ori sau chiar mai mult. Dacă solubilitatea substanței nu permite creșterea concentrației peste o anumită limită se fac soluții mai diluate din care se aplică volume mai mari, respectînd condițiile de aplicare în porțiuni mici și cu evaporări repetate. Pentru straturi subțiri pînă la 0,35 mm (350 μm), se recomandă ca volumul de soluție aplicat la start să nu depășească 50 μl (0,05 ml), iar cantitatea de substanță etalon aplicată nu trebuie să depășească 10—20 μg pentru separări calitative.

Soluția probei de cercetat se prepară în mod analog. Trebuie însă să se țină seama ca fiecare din componentele prezente în amestec să atingă concentrația necesară pentru identificare. De aceea se iau în lucru cantități mai mari, de 10—50 μg, sau 10—100 μg în funcție de numărul de substanțe din amestec [4]. În cazul probelor de substanțe necunoscute concentrația optimă se alege prin tatonări, aplicînd soluții cu concentrații crescînde, fie pe aceeași placă cromatografică fie pe plăci diferite. În cazurile în care se urmărește dozarea unei substanțe după separare și extracție din adsorbant, se fac soluții mai concentrate și se aplică pe strat cantități mari de substanțe, circa 100—1000 μg (iar grosimea stratului crește corespunzător) [5].

Aplicarea soluțiilor preparate pe plăcile cromatografice. În acest scop, se fixează mai întîi așa numita linie de start. Aceasta trebuie stabilită la circa 15—20 mm de una din marginile plăcii cromatografice. Dacă placa cromatografică are formă de pătrat, marginea aleasă poate fi oricare, iar la cele sub formă dreptunghiulară se alege, de obicei, marginea corespunzătoare laturii mai mici. În lipsa unui șablon special care indică direct locul de aplicare (v. cap. 6) marcarea pozițiilor se face foarte discret cu un vîrf de ac, iar aplicarea soluțiilor se face prin apropierea ușoară a micropipetei de suprafața adsorbantului. Pentru marcarea pozițiilor de aplicare a soluțiilor se recomandă să nu se zgîrie profund stratul de adsorbant. De asemenea, este bine să se evite străpungerea adsorbantului cu vîrful micropipetei, dislocîndu-l sau antrenîndu-l pe vîrful acesteia. Toate aceste detalii sînt importante pentru a împiedica modificări ale formei petelor, a valorilor R_f și pierderi de substanță. De obicei, concomitent cu linia de start se marchează și linia pînă unde trebuie să migreze frontul developantului. Aceasta poate fi la 100 mm de la start sau mai mult, în funcție de distanța de migrare necesară pentru o bună separare. Toate aceste operații

Scanned with OKEN Scanner

se pot face foarte comod cu ajutorul dispozitivelor şablon prezentate în cap. 6 (fig. 14 şi 19).

Aplicarea soluţiilor se poate face, fie sub formă de picătură rotundă, fie sub formă liniară (fig. 1). În ambele cazuri se utilizează dispozitive speciale (fig. 16 şi 25) sau micropipete obişnuite de 10—100 µl sau micropipete de forma celor prezentate în fig. 19 [6]. De asemenea, se pot folosi seringi micrometrice sau biurete micrometrice (fig. 15). Pentru determinări calitative, se pot folosi şi tuburi capilare simple. Distanţa între două puncte de aplicare a soluţiilor pe linia de start trebuie să fie de 10—20 mm, pentru a evita interferarea substanţelor datorită difuziunii în timpul migrării. Punctele de start extreme se stabilesc la o distanţă de cel puţin 10 mm faţă de margini.

De obicei, soluţia substanţei etalon se aplică pe o poziţie vecină cu aceea a probei cercetate. Dacă sînt mai multe substanţe etalon, se recomandă ca acestea să se aplice pe poziţiile din mijloc, iar amestecul cercetat să se aplice de o parte şi de alta a probelor etalon. Pentru a putea urmări mai uşor şi mai exact corespondenţa etaloanelor cu substanţele din amestec este bine ca acestea să aibe concentraţii apropiate în soluţiile etalon şi în amestecul de separat.

În cazurile cînd substanţele de separat sînt sensibile la acţiunea oxigenului din aer, sau cînd inactivarea parţială a plăcilor cromatografice în timpul aplicării probelor este dăunătoare, se foloseşte boxa specială Desaga [1, 3] care asigură condiţii optime: închidere etanşă şi atmosferă de gaz inert.

După aplicarea substanţelor de separat pe placa cromatografică aceasta se introduce în cuva cromatografică pentru developare.

8.1.2. *Developarea*

Pregătirea cuvei cromatografice. Cuvele cromatografice pot avea forme diferite, paralelipipedice, cilindrice, cameră „S“ etc. (v. cap. 6), iar developarea se poate face după diferitele tehnici indicate în cap. 9. Vasele cromatografice de formă paralelipipedică sînt cele mai potrivite pentru plăci mari de 20×20 cm, iar cele cilindrice sînt utilizate cu rezultate bune pentru plăci mai înguste. Drept cuve de developare se pot folosi vasele de sticlă de formă cilindrică pentru conservarea pieselor anatomice (capacitatea 1—3 l) [3, 7]. Pentru plăci dreptunghiulare mari, este foarte potrivită camera „S“ (Sandwitch) (fig. 24).

Cuvele cromatografice spălate şi uscate se căptuşesc cu hîrtie de filtru îmbibată cu amestecul de dizolvanţi folosit pentru separa-

Scanned with OKEN Scanner

rea substanţelor [3, 7]. Hîrtia de filtru se lipeşte de pereţii vasului prin intermediul peliculei de lichid rezultată din îmbibarea ei. Se evită pătrunderea marginii inferioare a acesteia în developantul aşezat pe fundul cuvei cromatografice. Această operaţie este indicată pentru asigurarea în interiorul cuvei cromatografice a unei atmosfere saturate în dizolvanţii folosiţi pentru developare şi prin aceasta, evitarea fenomenelor supărătoare date de evaporarea inegală a dizolvanţilor de pe placa cromatografică, în timpul developării. Saturarea atmosferei se realizează, de obicei, destul de repede (10—20 min) [8—12].

Introducerea plăcii cromatografice în developant. Developarea uzuală este developarea ascendentă. În cuva cromatografică astfel pregătită se introduce developantul ales pentru separarea substanţelor de cercetat. Cantitatea introdusă se evaluează astfel încît să nu depăşească un strat de circa 5 mm înălţime de la fundul vasului. Placa cromatografică se imersează cu capătul la care s-au aplicat probele în developant şi cuva se acoperă imediat [10, 12]. Este indicat ca stratul de adsorbant să fie imersat cît mai puţin posibil (3—4 mm), pentru ca migrarea să aibă loc încet şi cu debit mic, ceea ce influenţează pozitiv rezoluţia separării.

Durata developării variază între 15 şi 90 min în funcţie de viscozitatea dizolvanţilor şi de dimensiunile plăcii cromatografice. Oprirea developării se face prin scoaterea plăcii cromatografice din cuvă, după ce frontul amestecului de dizolvanţi a atins linia marcată pe suprafaţa stratului. Migrarea developantului se poate face pînă aproape de capătul superior al plăcii cromatografice, marcînd limita atinsă după scoaterea plăcii din cuvă, prin zgîrierea adsorbantului cu un vîrf ascuţit.

După cum rezultă din experienţele efectuate de E. Stahl [3], dacă saturarea vasului de cromatografie cu vaporii developantului nu este satisfăcătoare, se obţin separări incomplete sau modificări ale valorilor R_f. Prin evaporarea componentului cel mai volatil din developant, compoziţia amestecului de dizolvanţi pe placa cromatografică se modifică astfel încît condiţiile de cromatografiere sînt diferite faţă de cele existente într-o cuvă saturată cu developant [13]. Tot în legătură cu aceasta se menţionează aşa numitele „efecte de margine", amintite în cap. 4. Cea mai mare cantitate de dizolvanţi se evaporă la marginile plăcii cromatografice, astfel încît developantul de la mijlocul acesteia difuzează spre margini antrenînd totodată şi zonele de substanţă în mişcare. Ca urmare, în loc ca substanţele cu aceeaşi valoare R_f să fie dispuse pe o linie dreaptă vor fi dispuse pe un arc de cerc cu raza de curbură mai mică sau mai mare. De aceea, la evaluarea R_f-urilor este recoman-

Scanned with OKEN Scanner

dabil să se țină seama de forma frontului developantului. În caz contrar, rezultatele obținute pot fi complet eronate [12—15]. (În mod normal se evită orice abateri ale frontului developantului de la migrarea în linie dreaptă). Utilizarea camerelor „Sandwich" pentru developare (fig. 24) înlătură dificultățile de saturare ale atmosferei din interiorul cuvei cromatografice [13, 14].

În mod obișnuit, în developarea ascendentă, plăcile cromatografice sînt înclinate mai mult sau mai puțin prin rezemare de pereții vasului de developare. Abbot și colab. [15], urmărind efectul înclinației plăcii cromatografice asupra developării au observat că unghiul de înclinare afectează atît forma petelor de substanță cît și viteza de migrare. Dacă înclinarea este astfel încît stratul de adsorbant este imersat mai mult în developant, viteza de developare crește, însă petele devin difuze. Invers, dacă înclinarea este astfel încît stratul de adsorbant să fie mai puțin imersat în amestecul de dizolvanți, viteza de migrare scade ușor și petele de substanță au forme mai puțin difuze. Ei recomandă ca înclinație optimă un unghi de circa 45° între stratul de adsorbant și suprafața lichidului. Rosi și Hamilton [16] recomandă menținerea plăcilor în poziție verticală în timpul developării, folosind în acest scop, un anumit tip de ramă pentru fixare. Brenner și Niederwieser [17] recomandă în același scop un mijloc foarte simplu care permite totodată developarea în paralel a mai multor plăci cromatografice. Este vorba de un tub de

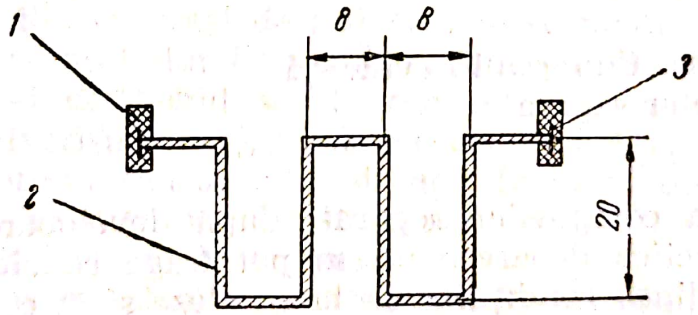


Fig. 34. Dispozitiv pentru fixarea plăcilor în cuvă, în poziție verticală (utilizabil pentru una sau două plăci):

1 — tampon pentru fixare în cuvă; *2* — ramă în care intră capătul superior al plăcilor cromatografice; *3* — pană.

sticlă îndoit, avînd mai multe bucle simetrice în care intră plăcile. Urion și colab. [18] mențin plăcile în poziție verticală cu ajutorul unor suporturi fixate la fundul vasului, iar Nyborn [19] desparte plăcile cu niște palete din material plastic. Reluînd principiul lui Brenner și Niederwieser, Tamaș-Pelloni utilizează un dispozitiv din

Scanned with OKEN Scanner

oțel inoxidabil, prevăzut la capete cu două tampoane din cauciuc spongios (fig. 34).

Firma Camag livrează la scară industrială accesorii care permit developarea în paralel a mai multor plăci cromatografice în poziție verticală [1]. Sloane-Stanley și colab. [20], Wollish și colab. [21] prezintă dispozitive asemănătoare ca principiu cu cele descrise mai înainte. Corporația științifică Kesington (S.U.A.) prezintă un suport care permite suspendarea plăcilor deasupra lichidului, înainte de a începe developarea și imersarea lor în developant, fără a deschide cuva cromatografică [1].

În general este indicat ca developantul să fie proaspăt preparat, iar îmbibarea hîrtiei de filtru care căptușește pereții cuvei să se repete înaintea fiecărei developări [3, 22].

8.1.3. *Uscarea plăcilor cromatografice după developare*

Uscarea cromatogramelor se poate face la temperatura camerei, prin suflarea unui curent de aer rece sau cald, sau în etuvă la temperaturi sub sau peste 100°C, în funcție de volatilitatea dizolvanților și de stabilitatea substanțelor analizate. În majoritatea cazurilor, dacă nu sînt necesare măsuri speciale, se recomandă menținerea cromatogramelor în etuvă la 100°C, timp de 5—20 min.

8.2. Identificarea. Punerea în evidență a substanțelor separate

Identificarea compușilor separați după developare are o mare importanță practică deoarece nu se pot trage concluzii în ce privește corectitudinea condițiilor de lucru alese și în ce privește comportarea substanțelor din amestec, decît dacă acestea sînt puse în evidență pe strat.

Cel mai simplu caz este acela al compușilor colorați care se observă direct pe cromatogramă [1, 23].

Un alt caz simplu este acela al compușilor care devin fluorescenți dacă sînt expuși la radiații U.V. caracteristice benzilor lor de absorbție [1, 3, 8, 24—28]. Compușii care absorb sau emit radiații fluorescente în domeniul vizibil [29] sînt ușor detectabili direct, sau dacă se adaugă stratului 1—10% dintr-o substanță care prezintă fluorescență la iradiere cu lumină U.V. După developare, cromatogramele se usucă la 100—110°C, se lasă să se răcească 5 min

și apoi se privesc în lumină U.V. la lungimi de undă de circa 260 sau 365 nm. Substanțele care absorb radiația de fluorescență apar ca zone întunecate pe fondul slab fluorescent al cromatogramei [8], iar cele ce emit radiație de fluorescență apar ca pete fluorescente. Trebuie ținut seama de faptul că unii developanți mai polari eluează anumite substanțe fluorescente din stratul de adsorbant [30]. În aceste cazuri speciale, este preferabil ca după developare să se pulverizeze soluția substanței fluorescente într-un dizolvant ușor volatil pe suprafața cromatogramei. Se lasă cîteva minute ca să difuzeze în adsorbant, apoi se usucă și se expune la radiații U.V. Identificarea prin expunere la radiații U.V. nu stînjenește o identificare ulterioară cu alți reactivi. Ceilalți compuși trebuie puși în evidență, fie pe baza unor reacții de culoare nespecifice, fie prin reacții de culoare specifice grupelor lor funcționale [1, 3, 31—33] (v. Cap. 10).

Aplicarea reactivilor pe cromatogramă se face de obicei prin pulverizarea lor sub formă de soluție, utilizînd în acest scop un pulverizator foarte fin (fig. 31 și 32). Este important să se regleze distanța între cromatogramă și pulverizator și presiunea cu care se pulverizează soluțiile, astfel încît să nu se îndepărteze adsorbantul de pe placă sau să difuzeze zonele de substanță datorită unei umectări prea mari. Pulverizarea se face ușor pe cromatograma uscată pînă cînd suprafața acesteia se acoperă cu un strat fin și uniform de reactiv. O astfel de pulverizare se poate realiza simplu, folosind pulverizatorul din figura 32, adaptat la o pară de cauciuc (datorită coloanei de lichid scurte din capilarul pulverizatorului), sau celelalte pulverizatoare (cu coloane de lichid mai lungi), conectate la un compresor sau suflător de aer. În afară de pulverizatoarele prezentate, se mai pot folosi și pulverizatoare de tipul celor utilizate în cosmetică sau în pictură.

După pulverizare, dacă cromatograma se expune la radiații U.V., sau dacă reacția de culoare are loc numai la cald, aceasta se usucă din nou în etuvă. În alte cazuri, ca acel al reacțiilor de diazotare și cuplare, colorația apare direct la temperatura camerei. Se determină apoi valorile R_f sau R_x, așa cum s-a arătat în cap. 2, sau cu ajutorul șablonului Desaga (fig. 14) prevăzut cu o scală care permite evaluarea directă.

O problemă foarte dificilă o constituie pulverizarea reactivilor pe straturile de adsorbanți aplicați sub formă uscată care nu aderă la placa de sticlă. În acest caz, pulverizarea se face de la distanță mult mai mare decît la straturile obișnuite, și cu presiune mică. Pentru a evita împrăștierea adsorbantului, se mai practică următorul mod de aplicare a reactivilor pe suprafața stratului: se aco-

Scanned with OKEN Scanner

peră cromatograma cu o sită metalică fină, iar cu ajutorul unei perii înmuiate în reactiv, trecută peste sită, se dispersează soluţia cît mai uniform posibil [1]. Este de asemenea posibil să se adauge în developant un reactiv de identificare iar, după uscare, produşii separaţi să fie observaţi direct sau în lumina U.V. [3].

Reactivii folosiţi pentru identificarea substanţelor pe cromatogramă, atît cei generali cît şi cei specifici, sînt prezentaţi în partea a treia a lucrării. Reactivii de identificare specifici fiecărui grup de substanţe sînt indicaţi în tabelele în care sînt descrise şi condiţiile de separare ale substanţelor respective, iar reactivii generali sînt prezentaţi în Cap. 10.

Dacă cromatografierea a fost executată corect (respectînd pe etape, toate condiţiile de lucru descrise pînă aici) se obţin zone de substanţă (pete) bine delimitate, cu suprafaţă mică, avînd o distribuţie de tip Gauss a substanţei în interiorul petei. Valorile R_f ale probei şi ale substanţei de referinţă sînt identice, permiţînd astfel identificarea substanţelor din probă.

Pentru a obţine informaţii asupra structurii substanţelor separate şi a purităţii lor se utilizează diferite procedee. Astfel, pot fi efectuate direct pe cromatogramă reacţii calitative folosind reactivi specifici pentru grupe funcţionale. Compuşii separaţi pot fi supuşi la reacţii de oxidare, reducere, hidroliză etc. [34], urmărind apoi comparativ comportarea cromatografică a substanţei şi a produşilor rezultaţi, fie prin repetarea developării direct, fie printr-o nouă developare după eluţia substanţei din strat. Se pot de asemenea efectua determinări calitative, folosind diverse metode chimice sau fizico-chimice, după eluţia substanţei separate din adsorbant. Eluţia se realizează delimitînd zona de substanţă (prin comparaţie cu o altă probă identificată, sau dacă substanţa prezintă fluorescenţă, prin iradiere cu radiaţii U.V.) şi trecînd apoi adsorbantul din zona respectivă împreună cu substanţa într-o eprubetă, unde substanţa se extrage cu dizolvanţi. Extracţia se efectuează agitînd cîteva minute adsorbantul cu dizolvant şi filtrînd prin filtru cu porii înguşti sau centrifugînd suspensia. Soluţia rezultată se foloseşte fie pentru determinări directe spectrale (U.V., I.R. etc.) sau alte determinări fizico-chimice, fie pentru efectuarea diferitelor reacţii de culoare specifice. De asemenea se pot efectua reacţii biologice variate [1, 3, 23]. În general, se pot aplica toate reacţiile calitative care se utilizează în analiza chimică şi fizico-chimică. Marele avantaj îl constituie faptul că şi în amestecuri foarte complexe, fiecare component poate fi cercetat separat. Un alt avantaj constă

Scanned with OKEN Scanner

în aceea că datorită rolului catalizator al straturilor de adsorbanți, multe reacții de identificare au o sensibilitate crescută [11, 38].

Dacă pentru unele investigații calitative sînt necesare cantități mai mari dintr-o anumită substanță separată, se efectuează cromatografie preparativă. Se folosesc aceleași condiții de lucru crescînd numai grosimea stratului de adsorbant proporțional cu cantitatea de substanță aplicată.

8.3. Determinarea cantitativă (Dozarea)

Evaluările cantitative se pot face direct pe cromatogramă, sau după eluția substanțelor din adsorbant; erorile determinărilor sînt în general cuprinse între 3 și 10% [5, 25, 39—46]. Se pot obține pe această cale informații prețioase asupra compoziției cantitative a diferiților compuși dintr-un amestec (cunoscut sau necunoscut). Spre deosebire de determinările calitative, în determinările cantitative placa cromatografică trebuie spălată cu developantul utilizat pentru separare înainte de aplicarea probelor [47]. Spălarea se face în același mod ca și developarea, prin imersarea plăcii cromatografice cu unul din capete în developant, lăsînd ca acesta să migreze pînă la extremitatea cealaltă a stratului de adsorbant. Spălarea se efectuează pentru a antrena eventualele impurități care ar putea interfera cu substanțele din amestec [3]. În cazul în care se face eluția substanțelor pentru dozare, se spală mai întîi placa cromatografică cu dizolvantul folosit pentru eluare.

Evaluarea cantitativă direct pe cromatogramă se poate face prin metoda comparării vizuale a suprafeței petelor, prin metoda diluțiilor, prin metoda densitometrării petelor prin metode biologice.

Dozarea după eluție se poate face prin metode spectrofotometrice, prin metode colorimetrice și fluorometrice, prin cromatografie în fază gazoasă, prin, metode volumetrice, gravimetrice, radiometrice etc.

Metoda comparării vizuale a suprafeței petelor. Este o metodă semicantitativă; aprecierea suprafeței petelor se poate face direct, vizual, sau folosind șablonul Desaga (fig. 14).

Suprafața petei unei probe se compară cu cea corespunzătoare unor concentrații cunoscute ale substanței de referință și prin aproximare se exprimă cantitatea de substanță din pata respectivă. Cunoscînd volumul sau cantitatea de substanță aplicată se poate calcula concentrația procentuală aproximativă. Erorile sînt mai mari în acest caz, ajungînd uneori pînă la $\pm 30\%$ [1].

Scanned with OKEN Scanner

Metoda diluţiilor şi a comparării vizuale a intensităţii şi suprafeţei petelor. Această metodă oferă posibilitatea evaluării cantitative, mult mai exact decît metoda anterioară.

Din experienţa de laborator a autorului rezultă că metoda poate fi aplicată cu succes la analiza cantitativă a multor amestecuri complexe, erorile nedepăşind ±6% [48—54]. Metoda s-a dovedit a fi un bun mijloc de urmărire a mersului celor mai variate şi dificile reacţii chimice de sinteză [49, 53]. Astfel, se poate efectua evaluarea cantitativă a produşilor de sinteză, a intermediarilor, a produşilor secundari, etc., direct pe această cale sau prin combinare cu alte metode de dozare după extracţia substanţelor din adsorbant [53, 55—57]. De asemenea, se poate urmări pe această cale cinetica unor reacţii chimice [57] şi sfîrşitul reacţiei permiţînd stabilirea parametrilor optimi pentru cele mai bune randamente [56]. Pentru toate aceste determinări se scot din masa de reacţie cantităţi mă-

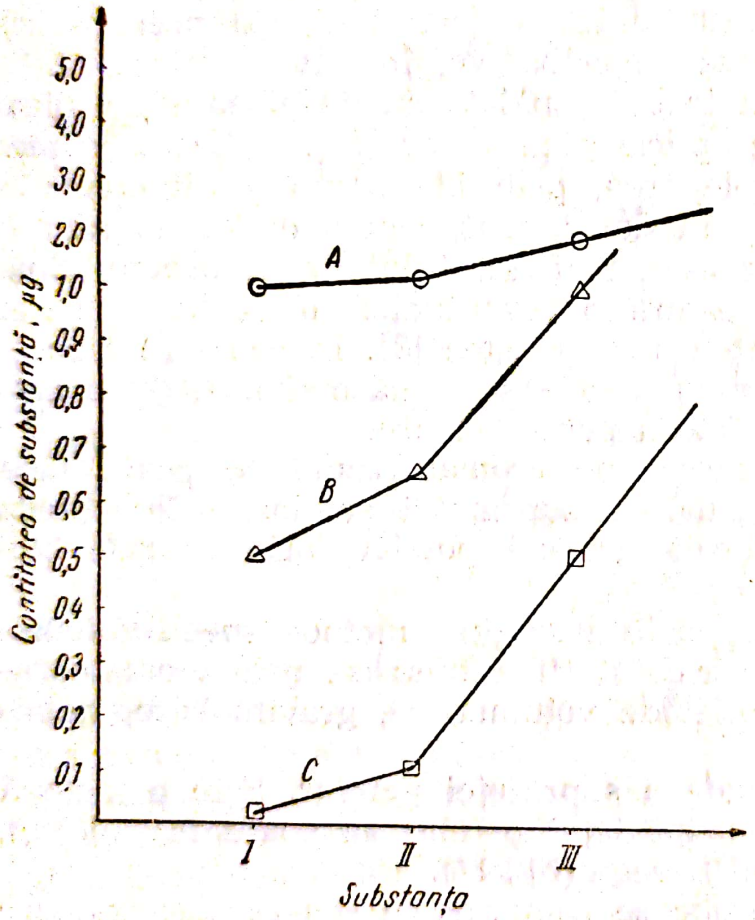


Fig. 35. Determinarea limitei de sensibilitate a substanţelor:
I—III, faţă de unii reactivi specifici şi generali (A—C): *I* — 4-nitroanilină; *II* — 2-clor-4-nitroanilină; *III* — 2,6-diclor-4-nitroanilină.

surate şi omogene de probe (care se diluează la nevoie cu dizolvanţi potriviţi) şi se cromatografiază comparativ cu substanţe de referinţă după indicaţiile ce urmează.

Prima operaţie constă în efectuarea determinărilor de sensibilitate faţă de anumiţi reactivi specifici sau nespecifici, pentru sub-

Scanned with OKEN Scanner

stanţa de referinţă. În acest scop se fac diluţii din soluţia substanţei de referinţă şi se aplică pe placa cromatigrafică cantităţi descrescătoare de la 10 la 1 μg. Se efectuează reacţia de identificare dorită şi se observă care este cea mai mică cantitate de substanţă identificabilă. Dacă reacţia de identificare este pozitivă şi la 1 μg, se fac diluţii mai mari şi se aplică cantităţi descrescătoare de la 1 la 0,1 μg. Din nou se observă cantitatea de substanţă care poate fi clar identificată şi se stabileşte, în acest mod, limita de

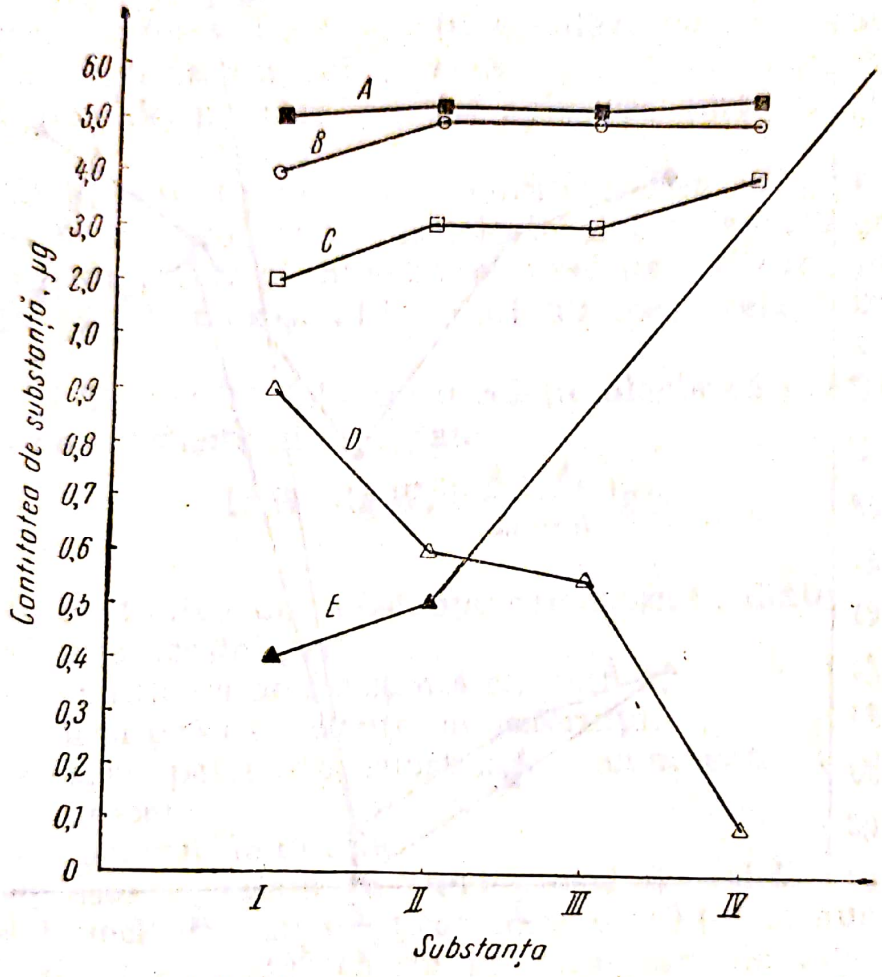


Fig. 36. Determinarea limitei de sensibilitate a substanţelor:

I—IV, faţă de unii reactivi specifici şi generali (A—E); *I* — acid salicilic; *II* — acid 3-clorsalicilic; *III* — acid 5-clorsalicilic; *IV* — acid 3,5-diclorsalicilic.

sensibilitate faţă de reactivul respectiv. Dacă în amestec sînt mai mulţi produşi cunoscuţi, se determină pentru fiecare în parte limita de sensibilitate (pe substanţe etalon) faţă de acelaşi reactiv sau alt reactiv de identificare, procedînd, în modul arătat [48, 49] (v. figurile 35, 36, 37).

Scanned with OKEN Scanner

În general, este indicat să se efectueze mai întîi o cromatogramă orientativă cu proba care urmează să fie evaluată cantitativ. Cunoscînd sensibilitatea substanţelor din amestec faţă de reactivii de identificare utilizaţi, se poate face o primă aproximare asupra con-

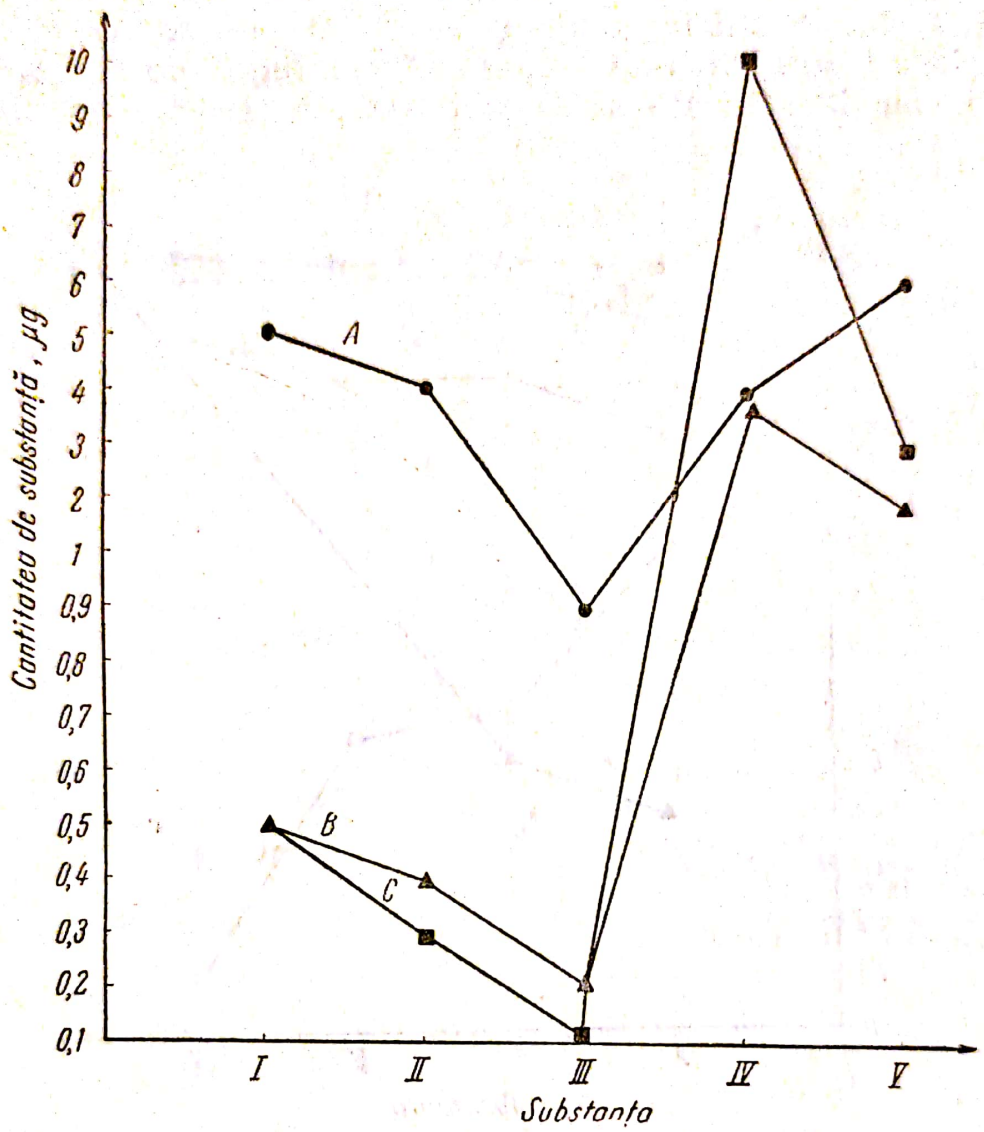


Fig. 37. Determinarea limitei de sensibilitate a substanţelor *I—V*, faţă de unii reactivi generali (A—C):
I — 2-amino-6-metilpiridină; *II* — N-(6-metilpiridil-2-)-N′, N′-dimetilformamidină; *III* — produs secundar izolat la sinteza produsului *IV*; *IV* — 6-metilpiridil-2-aminometilen-malonat de etil; *V* — ester etlic al acidului 1,4-dihidro-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridin-3-carboxilic.

ţinutului procentual. În funcţie de acest rezultat, se iau în lucru cantităţi mici de probă corespunzătoare la cel puţin 2—3 concentraţii aflate în jurul limitei de sensibilitate a substanţelor din amestec. Cromatografierea se face în paralel cu substanţele de referinţă, din care se aplică pe placa cromatografică cantitatea co-

Scanned with OKEN Scanner

respunzătoare limitei de sensibilitate stabilită față de reactivul sau reactivii folosiți. Pentru ca erorile să fie minime, adeseori este nevoie să se execute mai multe cromatograme, probele aplicate corespunzînd mai multor diluții atît ale substanțelor de referință cît și ale amestecului de analizat.

În ambele cazuri, de evaluare cantitativă prin compararea suprafeței petelor, este important să se respecte o serie de condiții care influențează suprafața și intensitatea zonelor de substanță (v. capitolele 2 și 7). Este vorba de mărimea particulelor adsorbantului, activitatea lui, grosimea stratului, aplicarea uniformă a petelor la start alegerea developantului, alegerea reactivului cel mai potrivit și pulverizarea lui corectă și, în mod special, utilizarea micropipetelor de precizie pentru aplicarea unor cantități exacte [1, 3].

Lucrînd în condiții de mare acuratețe, Petrowitz [58] și Seiler [59] au găsit în cazul unor insecticide și ioni anorganici o relație liniară între suprafața și intensitatea unei pete și cantitatea de substanță din ea. Numeroși alți autori au găsit relații analoge [17, 60, 61].

Purdy și Truter [1] folosesc o relație algebrică pentru a calcula cantitatea de substanță dintr-o pată:

$$\lg W = \lg W_s + \frac{A - A_s}{A_d - A} \lg d.$$

unde:

W este cantitatea de substanță necunoscută dintr-o pată;
A — aria acestei pete;
W_s — cantitatea de substanță cunoscută;
A_s — aria petei substanței de referință;
A_d — aria petei de substanță necunoscută după diluarea probei;
d — factorul de diluție.

Eroarea este apreciată ca fiind destul de mică, circa 3% [1]. Oswald și Flueck [61] au verificat această relație în numeroase determinări și au constatat că nu în toate cazurile este respectată, existînd un domeniu optim al mărimii suprafețelor. Autorul, verificînd relația pe un număr mare de determinări, constată că numai la diluții mici se obține o reproductibilitate satisfăcătoare [23, 52, 53].

Metoda densitometrică. Metoda densitometrică se aplică petelor colorate natural sau după identificare prin reacții de culoare, precum și petelor corespunzătoare substanțelor care absorb în U.V. și I.R. apropiat și petelor fluorescente [11, 39, 43, 62—65]. Procedeul utilizat de Kirchner și colab. [2] și reluat de Privett și Blank

[66], dă posibilitatea aplicării metodei densitometrice la numeroşi compuşi organici care nu au alte posibilităţi de dozare. Tehnica constă în pulverizarea cromatogramei cu acid sulfuric concentrat, conţinînd un agent de oxidare (bicromat de potasiu 80% în H_2SO_4) şi încălzirea ei la temperaturi ridicate (180°C, 30 min.). Substanţa organică se carbonizează, iar petele de culoare închisă se pot densitometra. Pentru utilizarea acestei tehnici, ţinînd seama de cantitatea de carbon ce rezultă, trebuie să se lucreze pe cantităţi mai mari decît în cazul obişnuit. De asemenea, temperatura şi timpul de încălzire trebuie riguros respectate.

Barett [67] utilizează acid fosforic, iar Peifer [68] acid percloric pentru carbonizarea substanţelor pe cromatogramă.

Metoda densitometrică este una din cele mai avantajoase metode de determinare cantitativă. Durata foarte scurtă a unei determinări, simultaneitatea determinării mai multor pete de pe o cromatogramă, reproductibilitatea rezultatelor şi domeniul larg de utilizare (v. cap. 6.3) justifică tendinţa de extindere a acestei metode [62—65]. Determinările se efectuează cu ajutorul densitometrelor (fig. 30). Cromatograma se aşază în poziţie orizontală pe suportul 5 din fig. 30, prevăzut cu un cadru dimensionat pe măsura plăcii cromatografice (uzual 20×20 cm) şi se înregistrează curbele densitometrice în modul descris în cap. 6.3. Aparatele moderne (ca Densitometrul Fotovolt 530 şi Densitometrul TLD 100 şi altele) sînt prevăzute cu dispozitive de baleiaj şi cu integratoare automate, ceea ce permite înregistrarea curbelor densitometrice pentru întreaga suprafaţă a petelor de substanţă (cu diametru pînă la 4 cm) şi evaluarea cantitativă directă prin integrarea simultană a suprafeţei curbelor obţinute. (Dacă suprafeţele curbelor densitometrice nu pot fi integrate concomitent cu înscrierea curbelor în cazul densitometrelor de tip mai vechi [1, 8] se recurge la planimetrarea ulterioară a acestora). Densitometrarea se poate efectua şi indirect, după fotografierea sau fotocopierea petelor [70, 71]. Pentru densitometrarea petelor colorate obţinute în urma pulverizării cromatogramei cu reactivi cromogeni, trebuie standardizate condiţiile de lucru astfel încît să se obţină culori uniforme şi reproductibile. De asemenea, trebuie evitată pulverizarea unui exces de reactiv care deranjează densitometrarea falsificînd rezultatele mai ales în cazul reactivilor coloraţi [33, 72].

Metode biologice. Acestea pot fi foarte variate [3, 73, 74]. Substanţele se pot doza direct pe cromatogramă sau se eluează din cromatogramă şi se fac apoi dozări biologice mai mult sau mai puţin specifice pentru un anumit compus sau pentru o grupă [73—76].

Scanned with OKEN Scanner

De exemplu un număr mare de antibiotice pot fi separate prin C.S.S., eluate și dozate biologic la fel ca și substanțele pure [3, 74].

Metoda spectrofotometrică în U.V. Aceasta se efectuează după eluția substanțelor din adsorbant, respectînd indicațiile date la cap. 8.2. pentru analiza calitativă după eluție și indicațiile de la cap. 8.3. Se menționează, în plus, necesitatea îndepărtării complete prin uscare a urmelor de dizolvanți rămași din developant. De asemenea, în cazul cînd substanțele se adsorb puternic pe sulfatul de calciu (folosit ca liant), este preferabil să se lucreze pe Silicagel H sau pe alt adsorbant fără gips [77]. Pentru reproductibilitatea rezultatelor, este preferabil să se lucreze în aceleași condiții, paralel proba și substanța de referință evitînd folosirea curbelor etalon [52, 78]. Metoda are o largă extindere, pe această cale dozîndu-se numeroase substanțe chimice (nucleotide și acizi aminați, alcaloizi, pesticide, steroizi etc. [79—85]).

Metoda colorimetrică. Se poate aplica direct după eluție în cazul produșilor colorați natural (caroteni etc.) [1, 23]. În acest scop, substanța colorată este extrasă din adsorbant cu un dizolvant potrivit, extractul se filtrează prin filtru cu pori fini și se citește extincția la lungimea de undă stabilită pe o probă de referință. Dozarea se poate efectua, fie lucrînd în paralel cu o probă de referință, fie raportînd extincțiile citite la o curbă etalon, determinată pe substanța de referință, în aceleași condiții de lucru.

În mod asemănător, metoda poate fi aplicată și altor produși, colorați în urma tratării cu reactivi cromogeni [33, 50, 86—88]. La eluția acestora, este importantă alegerea eluantului potrivit care să asigure stabilitatea colorantului în soluție. În alte cazuri, metoda colorimetrică poate fi aplicată indirect. Substanța se extrage din adsorbant cu dizolvantul cel mai potrivit, iar reacția de culoare se efectuează, dacă este posibil, în acest dizolvant sau după îndepărtarea lui prin evaporare, într-un dizolvant adecvat [1, 3, 8, 33, 89]. Pe această cale s-au dozat medicamente, vitamine, aminoacizi, glicozizi, pesticide, fenoli, alcooli, lipide, hidrați de carbon, acizi terpenici, steroizi etc. [39, 50, 89, 90—97].

Metoda fluorometrică. Determinarea fluorometrică se poate efectua direct sau după eluția petelor din adsorbant [27, 98—100]. Pentru determinări directe, Seiler și colab. [101] recomandă utilizarea unui spectrofluorometru cu deschiderea fantei de 0,1—1 mm și lampă de mercur furnizînd o radiație cu lungimea de undă de 365 nm. Straturile trebuie să aibă grosimea obișnuită de 250 μm și să nu conțină adaos de substanțe fluorescente. Curbele sînt înregistrate automat. Se pot obține rezultate satisfăcătoare pînă la concen-

Scanned with OKEN Scanner

traţia de 0,01 μg [1]. Zürcher şi colab. [100] efectuează cercetări asupra reproductibilităţii dozării directe fluorometrice şi spectrofotometrice obţinînd rezultate satisfăcătoare cu aparatura modernă folosită în acest scop.

Aparatul Z-Scanner furnizat de firma Camag (fig. 29) ca şi densitometrele Fotovolt 530, TLD 100 şi altele dau posibilitatea utilizării curente a metodei fluorometrice pentru determinări directe, pe cromatograme de diferite dimensiuni. După eluţie, metoda poate fi aplicată în toate cazurile în care compuşii prezintă fluorescenţă satisfăcătoare şi se poate asigura extracţia lor cantitativă din strat. Trebuie avut grijă să se evite extracţia unor eventuale impurităţi fluorescente cu care substanţa poate interfera. Müller şi Honerlagen [102] şi Braeckmann şi colab. [103] au utilizat această metodă la determinarea chininei şi chinidinei din extracte vegetale. Bruinvels [104] analizează pe această cale unii hormoni steroizi. Vaumer şi Stanley [1] aplică metoda la analiza unor uleiuri vegetale. Sawicki şi colab. [105] la analiza benzo-α-pirenului din atmosfera poluată, Genest şi colab. [106] la dozarea acidului lisergic şi a unor derivaţi iar Ibrahim [99] dozează pe această cale unii compuşi fenolici din plante. Kutácek şi Prochazka aplică metoda pentru determinarea unor compuşi indolici din plante, iar noi am utilizat-o la analiza unor produşi de sinteză cu structură naftiridinică [53].

Metoda cromatografică în fază gazoasă. Aceasta se poate aplica şi în cazul substanţelor separate prin cromatografie în strat subţire, după eluţia lor din adsorbant sau direct prin procedeele moderne de conectare a unor aparate sau dispozitive la cromatografele în fază gazoasă [107, 108]. Numeroase aplicaţii se întîlnesc la analiza lipidelor, a hormonilor steroizi etc. [109, 110]. Chatot şi colab. [108] dozează pe această cale hidrocarburile policiclice din atmosfera poluată.

Se efectuează mai întîi separarea cromatografică a substanţelor prin C.S.S., folosind ca adsorbant un amestec de oxid de aluminiu şi acetilceluloză, iar ca developant pentan şi etanol-toluen-apă (17 : 4 : 4). Pentru separare se utilizează tehnica bidimensională. Substanţele separate şi identificate prin iradiere cu lumină U.V. sînt eluate cu benzen la temperatura camerei. Eluatul se evaporă la sec, se reia într-un volum mic de benzen (circa 20 μl pentru aproximativ 12 μg substanţă) şi se injectează în cromatograf, efectuînd determinarea cantitativ. În paralel se efectuează o probă martor extrăgînd o cantitate de adsorbant fără substanţă (egală cu acea corespunzătoare probei) care este supusă aceluiaşi tratament

Scanned with OKEN Scanner

ca și proba. Pentru aceasta, cromatograful trebuie să aibă două coloane identice și un detector dublu de ionizare cu flacără.

Aparate ca Tascromatograf (Desaga), Diochrom (Camag) și altele, permit analiza inversă (directă) prin C.S.S., a fracțiunilor separate prin cromatografie în fază gazoasă [107].

Metoda volumetrică. Metodele volumetrice se pot aplica substanțelor eluate. În acest caz este nevoie de o cantitate de substanță mai mare decît pentru metodele fizico-chimice descrise. Pentru titrare se utilizează microbiurete și soluții diluate.

Vacikovă și colab. [111] analizează în acest mod acizii grași; Ikram și colab. [112] dozează alcaloizii din specii de Datura; Pastuska [1] aplică metoda pentru dozarea unor hidrați de carbon; Yukio și colab. [113] pentru unii compuși organici clorurați, iar Tamaş-Pelloni și colab. [114] analizează, pe această cale, acidul 4-clorsalicilic ca intermediar de sinteză, într-un mediu complex.

Analiza gravimetrică. Această metodă necesită cantități de substanță mari, din care cauză nu a căpătat extindere. E. Dunn și P. Robson [115] aplică metoda gravimetrică la determinarea lipidelor. Tot în acest scop, o folosesc și autorii Komarek și Jensen [116].

Analiza radiometrică. Metodele radiologice se utilizează în numeroase cazuri pentru dozarea substanțelor separate prin C.S.S. [117—120]. Pentru aceasta se folosește tehnica diluțiilor izotopice de adăugare a unei cantități cunoscute de component radioactiv amestecului de separat sau, reacția directă a componenților separați cu substanțe radioactive (de exemplu esterificarea acizilor separați cromatografic cu diazometan radioactiv). Radioactivitatea compușilor se poate măsura apoi direct folosind contoare de diferite tipuri sau, se apreciază din densitatea unei radiograme obținute prin suprapunerea filmelor sensibile la raze X, peste cromatogramă.

3.4. Păstrarea cromatogramelor sau a imaginii lor în scop documentar

3.4.1. *Păstrarea cromatogramelor*

Pentru păstrarea, timp mai îndelungat, a cromatogramelor după identificare, se procedează la acoperirea lor cu un strat de parafină sau colodiu [1, 3, 11, 121]. Aceasta se poate face, fie prin imersarea cromatogramelor în parafină topită, fie prin pulverizarea unei

Scanned with OKEN Scanner

soluţii de 4% colodiu, conţinînd 7,5% glicerină. În acest caz, după evaporarea dizolvantului, filmul poate fi desprins de placa de sticlă.

Un procedeu foarte răspîndit este folosirea soluţiilor de polimeri [26, 122, 123]. Prin aceste procedee, cromatograma poate fi păstrată ca atare, sau ca pelicule care se desprind de placa de sticlă şi care păstrează nemodificat aspectul cromatogramei. Lichtenberger [1] foloseşte în acest scop o dispersie apoasă de 15% clorură de viniliden şi constată că se obţin pelicule rezistente, însă uşor colorate în galben, spre deosebire de propionatul de vinil care dă pelicule albe, dar cu o rezistenţă mecanică slabă. Soluţiile de alcool polivinilic sînt des folosite în acest scop.

Numeroase alte preparate de polimeri cu utilizare identică se comercializează de către firmele producătoare de adsorbanţi şi reactivi pentru cromatografia în strat subţire. Firma Merck, livrează produsul Neatan care este o dispersie apoasă de polivinilpropionat avînd pH-ul în jur de 7. Pentru aplicarea pe cromatogramă, se fac diluţii 1 : 1 cu alcool metilic. Filmul rezultat se desprinde de placa de sticlă, împreună cu întregul strat de adsorbant, şi dacă se păstrează ferit de lumină, culorile şi fluorescenţa petelor pot fi conservate timp îndelungat. Firmele Camag şi Flucka, livrează lacuri cu calităţi tehnice foarte avantajoase, iar firma Woelm livrează produsul „Material plastic A". Neatanul se aplică pe cromatograma uscată, prin pulverizare, pînă cînd aceasta este umezită bine şi uniform. Se usucă apoi în aer sau, dacă este necesar, prin suflarea unui curent de aer rece sau cald. Îndepărtarea filmului rezultat se poate face prin imersarea în apă a cromatogramei. După dezlipirea de placa de sticlă, filmul se usucă prin presare între două hîrtii de filtru. Se evită uscarea la temperatură ridicată.

Mitser şi colab. [124] propun stabilizarea cromatogramelor în cazul unor acizi graşi, prin tratare cu antioxidanţi.

8.4.2. *Păstrarea imaginii cromatogramelor*

Aceasta se poate realiza prin mai multe procedee:

— Fotografierea colorată sau alb-negru [1]. De asemenea, fotografierea petelor fluorescente, policrome, în lumină U.V. (v. fig. 27) [125, 126].

— Fotocopierea cromatogramelor [127].

— Xerografierea [123].

— Copierea imaginii cromatogramei pe hîrtie transparentă [11, 12]. etc., prin contact direct cu stratul de adsorbant [1, 128].

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. *Kirchner, J. K.* Thin-Layer Chromatography Technique of Organic Chemistry. Vol. XII, Editor Weissberger A. New York, Interscience Publishers, 1967, p. 87, 147, 187, 209.
2. *Kirchner, J. K., Miller, J. M., Keller, G. J.* Anal. Chem., **23**, 1951, p. 420. p. 420.
3. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie, ein Laboratoriumsbuch, Ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
4. *Brown, W., Turner, A. B.* J. Chromatog., **26**, 1967, p. 518.
5. *Goldman, J., Goodall, K. R.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 9 și 24.
6. *Darocha, T.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 497.
7. *Von Arx, E.,* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 217; **8**, 1962, p. 145.
8. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography, New York, Academic Press, 1966, p. 49, 62, 70.
9. *Dallas, M. S. J.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 58.
10. *Geiss, F., Sandroni, S.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 201.
11. *Tamaș-Pelloni, V.* Cromatografia în strat subțire, referat prezentat la Fac. de Chimie București, Catedra de chimie organică, 1968.
12. *Brenner, M., Niederwieser, A., Pataki, G.* Experientia, **17**, 1961, p. 145.
13. *De Zeeuw, R. A.* Anal. Chem., **40**, 1968, p. 915.
14. *De Zeeuw, R. A.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 43.
15. *Abbott, D. C., Egan, H., Nommond, E. W., Thomson, J.* Analyst, **89**, 1964, p. 480.
16. *Rosi, D., Hamilton, P.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 388.
17. *Brenner, M., Niederwieser, A.* Experientia, **16**, 1960, p. 378.
18. *Urion, E., Metche, M., Haluk, J. P.* Brauwissenschaft, **16**, 1963, p. 211.
19. *Nybom, N.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 118.
20. *Sloane-Stanley, G. H., Bowler, L. M.* Lab. Pract., **11**, 1962, p. 769.
21. *Wollish, E. G., Schmall, M., Hawrylyschen, M.* Anal. Chem., **33**, 1961, p. 1138.
22. *Brown, T. L., Benjamin, J.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 446.
23. *Tamaș-Pelloni, V., Voinescu, R., Mihalaș, E., Sterescu, M., Simionovici, R.* Medicamente — Studii și cercetări C.D.I.C.P. 3, 1968, p. 164.
24. *Roth, M.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 276.
25. *Gordon, H. T.* J. Chromatog., **22**, 1966, p. 60.
26. *Zawta, B., Hoelzel, W.* Pharmazie, **23**, 1968, p. 296.
27. *Hamman, B. L., Martin, M. M.* J. Lab. Clin. Med., **73**, 1969, p. 1042.
28. *Lehrfeld, J., Goodwin, J. C.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 150.
29. *Stahl, E., Fresenius, Z.* Anal. Chem., **236**, 1968, p. 294.
30. *Tschesche, R., Biernoth, G., Wulff, G.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 342.
31. *Feigel, F.* Spot Tests in Organic Analysis. Amsterdam, Elsevier, 1960.
32. *Gremzová, I., Gasparic, J.* Collection Czechoslov. Chem. Commun., **31**, 1966, p. 2525.
33. *Barney, J. E., Harvey, S. R., Hermann, T. S.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 82.
34. *Mathis, C.* Ann. Pharm. Franc., **23**, 1965, p. 331.
35. *McCoy, R. N. Fiebig, E. C.* Anal. Chem., **37**, 1965, p. 593.
36. *Barber, E. D.* J. Chromatog., 27, 1967, p. 398.
37. *Tamaș-Pelloni, V., Rădulescu, N., Simionovici, R., Ambruș, I., Sterescu, M.* Lucrările Conferinței de Chimie analitică, Brașov, septembrie 1971.
38. *Cremer, E., Fresenius,* Z. Anal. Chem., **245**, 1969, p. 37.
39. *Mizelle, J. W., Dunlap, W. J., Wender, S. H.* J. Chromatog., **28**, 1967, p. 427.

Scanned with OKEN Scanner

40. *Oelschläger, H., Vokle, J., Lim, G. T.* Archiv. Pharm., **208**, 1965, p. 213.
41. *Lam, J., Berg, A.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 168.
42. *Székely, G.*, J. Chromatog., **42**, 1969, p. 543.
43. *Genest, K.*, J. Chromatog., **19**, 1965, p. 531.
44. *Busch, J. E., Hoffmann, P. C.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 164.
45. *Roth, M.* J. Chromatog. **30**, 1967, p. 276.
46. *Dulămiță, N.* Studii și cercetări de chimie **16**, 1968, p. 183.
47. *Redgwell, K. J., Bieleski, R. L.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 231.
48. *Tamaș-Pelloni, V., Simionovici, R., Mihalaș, E., Aftalion, H.* Lucrările Conferinței Republicane de Chimie Analitică, Constanța, septembrie 1969.
49. *Simionovici, R., Aftalion, H., Tamaș-Pelloni, V., Albert, F.* Lucrările Conferinței Republicane de Chimie Analitică, Constanța, septembrie 1969.
50. *Tamaș-Pelloni, V., Budișteanu, N., Simionovici, R., Sterescu, M., Albert, F.* Lucrările Conferinței Republicane de chimie fizică generală și aplicată. București, septembrie 1968.
51. *Tamaș-Pelloni, V., Albert, F., Nițelea, I.* A V-a sesiune de comunicări științifice I.C.C.F., 1967.
52. *Tamaș-Pelloni, V., Sterescu, M.* A V-a sesiune de comunicări științifice I.C.C.F., București, 1967.
53. *Simionovici, R., Aftalion, H., Tamaș-Pelloni, V., Budișteanu, N.* Lucrările Conferinței de chimie analitică, Brașov, septembrie 1971.
54. *Cămărașu, C., Tamaș-Pelloni, V.. Dick, I.* Lucrările Conferinței de chimie analitică, Brașov, septembrie 1971.
55. *Tamaș-Pelloni, V., Simionovici, R., Rădulescu, N.* Lucrările Conferinței Republicane de chimie fizică generală și aplicată, București, septembrie 1970.
56. *Aldea, V., Bănulescu, V., Cilianu, Șt., Tamaș-Pelloni, V.* Brevet rom. Nr. 51 308/24.5.1968.
57. *Sterescu, M., Tamaș-Pelloni, V., Voinov, V., Cristea, Al.* Lucrările Conferinței naționale de chimie fizică generală și aplicată, București, septembrie 1968.
58. *Petrowitz, H. J.* Mitt. Deut. Ges. Holzforsch., **48**, 1961, p. 57.
59. *Seiler, H.* Helv. Chim. Acta, **46**, 1963, p. 2629.
60. *Aurenge, J., De Georges, M., Normand, J.* Bull. Soc. Chim. France, 1963, p. 1732.
61. *Oswald, N., Flueck, H.* Pharm. Acta Helv. **39**, 1964, p. 293.
62. *Shellard, E. J.* Nature, **216**, 1967, p. 1168.
63. *Egorova, N. F., Sokolov, A. V.* Anal. Khim., **23**, 1963, p. 1259.
64. *Knapstein, P., Touchstone, J. C., Menzel, P., Oertel, G. W.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 193.
65. *Feuster, M. E., Burns, B. J., Mead, J. F.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 120.
66. *Privett, O. S., Blank, M. L.* J. Am. Oil Chemists Soc., **39**, 1962, p. 520.
67. *Barrett, C. B., Dallas, M. S. J., Padley, F. B.* J. Am. Oil Chemists Soc., **40**, 1963, p. 580.
68. *Peifer, J.* J. Microchim. Acta, 1962, p. 529.
69. *Molnar, I., Winter, J., Tamaș-Pelloni, V., Uricaru, N.* A IV-a sesiune de comunicări științifice I.C.C.F., București, 1965.
70. *Neubauer D., Mothes, K.* Planta Med., **9**, 1961, p. 466.
71. *Rylicka, S. M.* Chem. Ind., 1962, p. 1947.
72. *Squibb, R. L.* Nature, **199**, 1963, p. 1216.
73. *Geike, F.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 95.
74. *Zuidweg, M. H. Y., Oostendorp, J. G., Bos. C. J. K.* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 552.
75. *Horton, E. ., Thomson, C. J.* Brit. J. Pharmacol., **22**, 1964, p. 183.

Scanned with OKEN Scanner

76. *Kaldewey, H., Stahl, E.* Planta, **62**, 1964, p. 22.
77. *Loyd, L., Mitchell, C.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 269.
78. *Wright, J. C.* Anal. Chem. Aplic., **1968**, p. 22.
79. *Bondivenne, M., Busch, N.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 349.
80. *Philipson, J. D., Shellard, E. J.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 427.
81. *Ragab, M.T.H.* Lab. Pract., **17**, 1968, p. 1342.
82. *Abbott, D. C., Thomson, J.* Chem. Ind., **1964**, p. 481.
83. *Roukainen, P., Brümmer, S.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 374.
84. *Mano, G. M.* Thin-Layer Chromatography of 2,4-Dinitrophenylhydrazones of aliphatic Carbonyl Compounds and Their Quantitative Determination. In Thin-Layer Chromatography, Marini-Bettolo, G.B., Amsterdam, Elsevier, 1964, p. 138.
85. *Sloji Hara.* Anal. Chem., **40**, 1968, p. 1605.
86. *Bradshaw, L. R. A.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 422.
87. *Pantel, P.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 392.
88. *Matsui, F., Watson, J. R., French., W. N.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 109.
89. *Steller, W. A., Curry, A. N.* J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, **47**, 1964, p. 645.
90. *Kuznetsova, L. M., Kovalova, V. M.* Ukr. Biochim. Zh., **36**, 1964, p. 302.
91. *Pataki, G.* Dünnschicht-Chromatographie in der Aminosäure und Peptid-Chemie, Berlin, Walter de Gruiter, 1966.
92. *Bican-Fister, T.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 91.
93. *Tamaș-Pelloni, V., Rădulescu, N., Simionovici, R.* Studii și cercetări. lucrare sub tipar.
94. *Buzlanova, N. M., Ulianova, V. N., Obtemperanskaia, S. I.* Zh. Anal. Khim., **23**, 1968, p. 1425.
95. *Amenta, J. S.*, J. Lipid Res., **5**, 1964, p. 270.
96. *Walsh, D. E., Banasik, O. J., Gilles, K. A.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 278.
97. *Saukoff, I., Sourkes, T. L.* Can. J. Biochem. Physiol., **41**, 1963, p. 1381.
98. *Dvir, R., Chayen, R.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 76.
99. *Ibrahim, R. K.*, J. Chromatog., **42**, 1969, p. 544.
100. *Zürcher, H., Pataki, G., Borko, J., Frei, R. W.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 457.
101. *Seiler, N., Werner, G., Weichmann, M.* Naturwissenschaften, **50**, 1963, p. 643.
102. *Müller, K. H., Honerlagen, H.* Arch. Pharm., **193/65**, 1960, p. 202.
103. *Braeckman, P.* și colab. Chem. Abstr., **60**, 1964, p. 1541.
104. *Bruinvels, J.* Experientia, **19**, 1963, p. 551.
105. *Sawicki, E., Stanley, J. W., Elbert, W. C., Pfaff, J. D.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 497.
106. *Genest, K., Farmilo, C. G.* J. Pharm. Pharmacol., **16**, 1964, p. 250.
107. *Padley, F. B.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 37.
108. *Chatot, G., Jequier, W., Jay, M., Fontanges R.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 415.
109. *Huston, C. K., Albro, P. W.* J. Bacteriol., **88**, 1964, p. 425.
110. *Collins, W. P., Sommerville, I. F.* Nature, **203**, 1964, p. 836.
111. *Vacíková, A., Felt, V., Maliková, J.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 301.
112. *Ikram, M., Bakhsh, M. K.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 111.
113. *Yukio, I.* și colab. J. Chromatog., **36**, 1968, p. 545.
114. *Tamaș-Pelloni, V., Simionovici, R., Wohl, L.* (lucrare nepublicată).
115. *Dunn, E., Robson, P.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 501.
116. *Komarek, R. J., Jensen, R. G., Pickett, B. W.* J. Lipd Res., **5**, 1964, p. 268.
117. *Vermeulen, A., Verplancke, J. C. M.* Steroids, **2**, 1963, p. 453.
118. *Născuțiu, T. E.* Teză de doctorat, Fac. de Chimie, Universitatea București, 1967.

Scanned with OKEN Scanner

119. *Massaglia, A., Rosa, U.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 516.
120. *Moghissi, A.* J. Chromatog., **13**, 1964, p. 542.
121. *Poetke, W., Kinze, W.* Arch. Pharm., **297**, 1964, p. 593.
122. *Coffey, R. G., Newburgh, R. W.* J. Chromatog., **11**, 1963, p. 376.
123. *Abend, Th., Stamm, O. A.* J. Chromatog., **26**, 1967, p. 79.
124. *Mitsev, I., Slavceva, J., Popov, A.*, Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci., **20**, 1967, p. 693.
125. *Radler, F., Grucarevic, M. V.* J. Agr. Food Chem., **12**, 1964, p. 266.
126. *Randerath, K., Randerath, E.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 111.
127. *Getz, H. R., Lawson, D. D.* J. Chromatog., **7**, 1962, p. 266.
128. *Ritschard, W. J.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 327.

9. Diferite tehnici de developare în cromatografia în strat subţire

9.1. Tehnica ascendentă

Tehnica ascendentă este utilizată frecvent în cromatografia în strat subţire şi este descrisă, în detaliu, în capitolul 8.

9.2. Tehnica descendentă, simplă şi continuă

Developarea descendentă se practică, în general, în cazul straturilor preparate cu adsorbanţi uscaţi, cînd aceştia nu aderă la placa de sticlă şi, ca urmare, plăcile cromatografice nu se pot developa în poziţie verticală. Placa cromatografică este înclinată în acest caz cu un unghi de circa 20° faţă de orizontală. Această tehnică se utilizează şi în cazul separării unor substanţe cu mobilitate foarte mică, cînd este nevoie de o developare continuă [1—4].

Cuva cromatografică este formată dintr-un vas paralipipedic sau cilindric care are înălţimea mai mică decît lăţimea sau diametrul, astfel încît placa cromatografică să încapă comod în interior, în poziţie orizontală. Dacă rezervorul cu developantul ales pentru separare are o adîncime relativ mare (7—8 cm) el se aşază direct pe fundul cuvei, în caz contrar este aşezat pe un suport de circa 3—4 cm înălţime [1, 2]. Aceasta este necesar pentru ca placa cro-

Scanned with OKEN Scanner

matografică să poată căpăta înclinaţia dorită prin rezemarea sa cu unul din capete pe marginea rezervorului, iar cu celălalt pe un alt suport cu înălţime mai mică. Legătura între developantul din rezervor şi capătul plăcii cromatografice, unde s-au aplicat probele, se face prin intermediul unei hîrtii cromatografice prin care developantul are o viteză mare de migrare. Se recomandă evitarea hîrtiilor de filtru obişnuite care pot transmite impurităţi stratului [4]. Cealaltă extremitate a plăcii cromatografice nu se reazimă direct pe fundul cuvei cromatografice, ci pe un suport, deoarece în developarea continuă, developantul scurs s-ar acumula pe fundul vasului împiedicînd migrarea normală. Scurgerea developantului din cromatogramă se face prin intermediul unei hîrtii de filtru aşezată pe suport sub placa cromatografică [4] sau prin intermediul

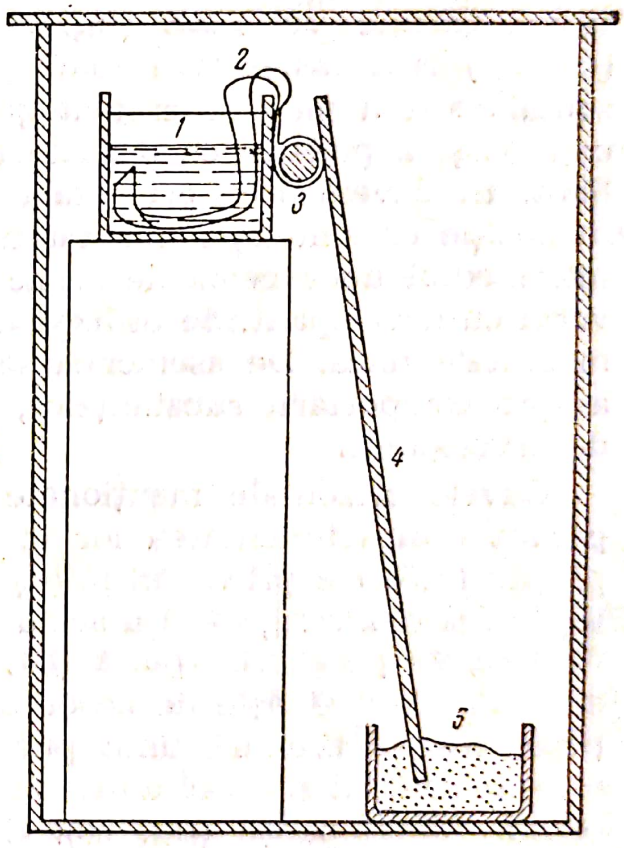


Fig. 38. Developarea descendentă:
1 — developant; *2* — fişie de hîrtie cromatografică; *3* — tub de cauciuc; *4* — placă cromatografică; *5* — suport adsorbant.

unui material spongios [5]. Dacă se utilizează straturi de adsorbanţi care aderă la placa de sticlă, developarea descendentă se poate face în poziţie verticală (fig. 38).

Numeroşi autori [6—10] au folosit aparatură improvizată pentru developarea descendentă. În general, developantul este adus pe placa cromatografică prin intermediul hîrtiilor cromatografice,

Scanned with OKEN Scanner

iar capătul inferior al plăcii cromatografice este aşezat pe un suport adsorbant: un jgheab cu pămînt de diatomee [6], un tampon gros din hîrtie de filtru [7], un suport din material spongios [5] etc. În figura 38 este reprezentat schematic modul de aşezare al plăcii cromatografice în tehnica de developare descendentă folosind straturi cu liant.

Aparatură standardizată pentru cromatografia în strat subţire descendentă furnizează compania Research Specialities.

9.3. Tehnica orizontală

În acest scop, există aparatură modernă furnizată de numeroase firme. Cuvele Vario-KS (fig. 26) (Camag) sau BN-Trennkammer (Desaga) sînt dispozitive foarte practice pentru developarea orizontală atît a plăcilor cromatografice preparate cu adsorbanţi uscaţi cît şi a plăcilor cu diferite straturi de adsorbanţi cu sau fără liant. În developarea orizontală placa cromatografică este aşezată în poziţie orizontală, alimentarea cu developant efectuîndu-se prin intermediul unor benzi de hîrtie cromatografică imersate în rezervorul cu developant. Se utilizează pentru separarea unor produşi cu mobilitate mică. De asemenea se indică pentru studii comparative asupra comportării substanţelor, concomitent, într-un număr mare de developanţi.

Cuvele orizontale menţionate sînt prevăzute cu accesorii care permit compartimentarea lor în zone înguste de circa 3 cm, despărţite între ele printr-un mic şanţ. În acest mod se poate efectua separarea cromatografică a aceluiaşi amestec de substanţe sau probe diferite, de pe aceeaşi placă (20×20 cm), în mai mulţi developanţi deodată. Fiecare fîşie de adsorbant de pe placă (de circa 3 cm lăţime) corespunzătoare unui punct de aplicare a probelor la start este alimentată separat dintr-un alt compartiment al jgheabului ce conţine developanţii (fig. 26). Cuvele orizontale pot fi folosite şi pentru tehnica de developare polizonală [11] (v. cap. 9.11).

Aparatură improvizată pentru cromatografia în strat subţire orizontală, descriu autorii Stahl [10], Mistryukov [12], Brenner şi Niederwieser [13] şi alţii. Dispozitivul propus de Brenner şi Niederwieser constă dintr-o cuvă în care placa se aşază orizontal şi care este descoperită la un capăt astfel încît developantul să se poată evapora după ce a parcurs stratul. Developantul proaspăt

Scanned with OKEN Scanner

este adus din rezervor pe suprafața stratului prin intermediul unei fișii de hîrtie cromatografică [13]. În acest mod se poate realiza o developare continuă.

9.4. Tehnica radială

Primii cercetători care au descoperit metoda cromatografiei în strat subțire, Ismailov și Schraiber [14] și mai tîrziu Meinhard [15], au folosit tehnica radială. Bryant [16] și Stahl [17] folosesc tehnica radială în mod asemănător cu cea folosită la cromatografia pe hîrtie. Developarea se poate face în plăci Petri, în care plăcile cromatografice sînt așezate orizontal. Developantul este adus pe suprafața stratului prin intermediul unui fitil adsorbant (din hîrtie de filtru sau bumbac) așezat la mijlocul plăcii cromatografice. Substanțele de separat se aplică în 2—4 puncte pe un cerc cu rază mică (circa 1—2 cm). După developare se obțin zone de substanță dispuse pe un arc de cerc, ca și în cazul cromatografiei pe hîrtie [18]. Placa cromatografică se sprijină pe marginile plăcii Petri și poate fi așezată fie cu adsorbantul spre interiorul cuvei, cînd nu este nevoie să se acopere cuva, fie cu adsorbantul spre exterior, în care caz se acoperă tot sistemul cu un clopot de sticlă.

9.5. Tehnica centrifugală

Tehnica centrifugală poate fi aplicată în același mod ca și în cromatografia pe hîrtie [18]. Tehnica include folosirea forței centrifuge pentru accelerarea developării, iar plăcile cromatografice se prevăd cu un orificiu la mijloc pentru a putea fi adaptate la centrifugă. Korzun și Brody [19] aplică, pentru prima oară metoda centrifugală, în cromatografia în strat subțire, folosind plăci cromatografice cu oxid de aluminiu sau plăci de aluminiu. Probele sînt aplicate la circa 2,5 cm de orificiul central, iar developantul are o curgere constantă. Viteza de rotație a centrifugii este de aproximativ 500—700 rot/min. În acest mod, timpul de developare este mult redus [3].

Atît cromatografia centrifugală cît și cea radială au o extindere limitată în cromatografia în strat subțire. Peyrou [20] făcînd o trecere în revistă a acestor tehnici, indică utilizarea lor la

Scanned with OKEN Scanner

separarea terpenelor, alcoolilor, fenolilor, a unor hidraţi de carbon, acizi şi esteri, coloranţi, compuşi heterociclici, compuşi anorganici etc.

9.6. Tehnica bidimensională

Tehnica bidimensională are o largă aplicare în cromatografia în strat subţire. Ca şi în cromatografia pe hîrtie, tehnica este recomandată în cazul separării amestecurilor de multe componente, înrudite structural. În acest scop, se pot folosi plăci cromatografice cu acelaşi adsorbant pe întreaga suprafaţă, sau avînd o parte din suprafaţă acoperită cu un adsorbant şi cealaltă cu alt adsorbant [21, 22]. De asemenea, developarea se poate face în ambele direcţii cu acelaşi developant sau cu developanţi diferiţi [10]. Plăcile cromatografice au o formă pătrată, iar proba se aplică în unul din unghiurile pătratului, păstrînd o distanţă de circa 1,5—2 cm, faţă de cele două margini. Se developează uzual, ascendent, apoi se scoate şi se usucă. Cromatograma obţinută se roteşte cu un unghi de 90° faţă de direcţia primei developări şi se introduce din nou în developant.

Substanţele rezultate după prima separare se vor separa mai departe în componentele respective prin deplasarea lor în direcţie perpendiculară faţă de sensul primei migrări. După a doua developare, cromatograma se usucă şi se identifică.

În cazurile în care placa cromatografică conţine doi adsorbanţi se ridică unele dificultăţi la prepararea straturilor. Autorul a folosit, în acest scop un perete despărţitor introdus în rezervorul dispozitivului de întindere a straturilor astfel încît ambii adsorbanţi, sub formă de pastă, au fost aplicaţi simultan [22]. Denivelarea uşoară care rezultă la limita dintre cele două straturi se poate anula printr-o înclinare a plăcii cromatografice, astfel ca pasta încă moale a celor doi adsorbanţi să se amestece în această zonă. Este de asemenea necesar să se marcheze, înainte de introducerea plăcii cromatografice în cuvă, sensul de migrare atît pentru prima developare cît şi pentru a doua.

Metoda poate fi combinată cu metoda electroforezei. Astfel, Honnegger [23] aplică electroforeza pentru prima separare, apoi face cromatografierea în direcţie perpendiculară pe sensul primei migrări. După prima developare, placa poate fi tratată în diferite moduri, efectuînd apoi cromatografierea pe cea de a doua direcţie. Astfel, Bergel'son şi colab. [24] utilizează pentru separarea acizi-

Scanned with OKEN Scanner

lor graşi nesaturaţi straturi de silicagel impregnate cu dodecan pentru prima developare apoi, după uscare şi impregnarea stratului cu azotat de argint, cromatografiază perpendicular pe prima direcţie. Numeroşi alţi autori folosesc tehnica bidimensională în diferite variante pentru separarea aminoacizilor [25—28], steroidelor [29], 2,4-dinitrofenilhidrazonelor [21, 30, 31], pentru medicamente [32—33], ioni anorganici [34—37], flavone [37, 38], heterocicli cu azot [39], glicozide [40], lipide, nucleotide, hidraţi de carbon etc.

9.7. Tehnica developării multiple

Developarea multiplă utilizată în cromatografia pe hîrtie a fost extinsă de către Mottier şi Potterat [41] la cromatografia în strat subţire. Tehnica constă în repetarea de mai multe ori a developării, după uscarea intermediară a cromatogramei. Developarea se face în aceeaşi direcţie şi cu acelaşi developant [42]. Valoarea R_f după a n-a developare, se deduce din valoarea R_f iniţială, folosind relaţia dată pentru determinarea valorii R_f în developarea multiplă (v. cap. 2.2.). Tehnica se foloseşte în cazul substanţelor cu valori R_f foarte apropiate, sau cu valori R_f foarte mici. Trebuie însă ţinut seama de faptul că, după un număr mai mare de developări, unele componente se apropie şi mai mult unele de altele, ducînd la interferarea petelor. De aceea, tehnica se aplică controlînd riguros necesitatea şi eficienţa unui anumit număr de developări [10, 42]. Thoma [43, 44], Starka şi Hampl [45], precum şi alţi autori, au studiat aspectele teoretice ale developării multiple şi au stabilit relaţii pentru determinarea numărului de developări necesare pentru separarea a doi sau mai mulţi componenţi cu o anumită valoare R_f. Riechert [46] aplică developarea multiplă cu rezultate foarte bune la separarea unui număr mare de medicamente hipnotice, iar Stahl [10] descrie folosirea tehnicii la cele mai variate grupe de substanţe.

9.8. Tehnica developării în trepte

Developarea în trepte a fost aplicată în cromatografia în strat subţire de către Miller şi Kirchner [47] şi Stahl [48]. Tehnica constă în developarea repetată, în aceeaşi direcţie, cu developanţi diferiţi şi lungimi diferite ale frontului developant, astfel că zonele

Scanned with OKEN Scanner

de substanţă parcurg distanţe diferite la fiecare developare [48]. De obicei, se folosesc developanţi a căror polaritate creşte treptat, sau invers.

De exemplu, la separarea unui amestec de substanţe (derivaţi cu nucleu naftiridinic), se face o primă developare pe o distanţă de circa 5 cm, cu un developant polar. Compuşii cei mai polari sînt separaţi din amestec şi migrează împreună (A+B).

A doua developare (după uscarea intermediară a cromatogramei), se face într-un dizolvant cu polaritate mult mai mică, developantul parcurgînd o distanţă dublă (10—12 cm), cînd cei doi derivaţi (A şi B) separă cu valori R_f diferite [49]. Variind developantul, timpul de developare şi numărul de developări se pot obţine separări foarte bune [3, 8, 10, 25, 50, 51].

9.9. Tehnica developării în formă de pană

Developarea în formă de pană se utilizează pentru separarea substanţelor cu valori R_f foarte apropiate [52, 53]. Tehnica constă în delimitarea pe suprafaţa plăcii cromatografice a unor coloane

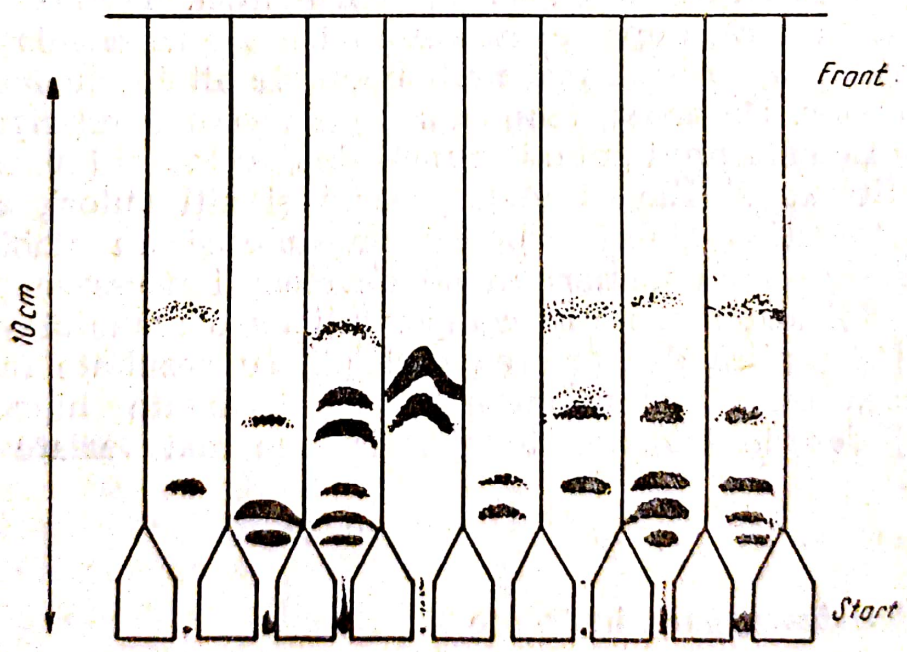


Fig. 39. Developarea în formă de pană.

de adsorbant care au partea inferioară în formă de pîlnie cu lumenul îngust (fig. 39). Proba se aplică în porţiunea îngustă a coloanei, la o distanţă de 1,5 cm de capătul plăcii cromatografice. Developarea

Scanned with OKEN Scanner

se face obişnuit, ascendent. Substanţele separă sub formă de zone înguste. Prin această tehnică, pot fi separate urmele de impurităţi care interferă în separările obişnuite [51, 54, 55].

Separări şi mai bune se pot obţine utilizînd straturi în formă de W (fig. 40) [8, 33, 53]. La fel ca şi în cazul coloanelor în formă

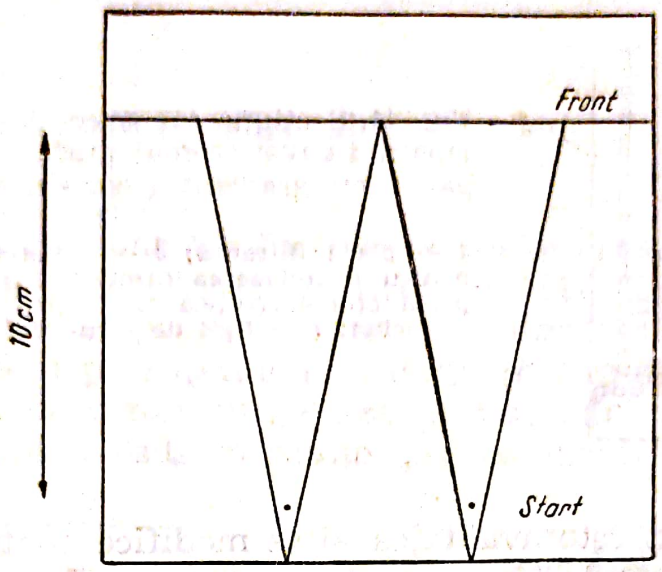


Fig. 40. Developarea în formă de W.

de pîlnie, se decupează în suprafaţa adsorbantului forma arătată în figura 40. Restul adsorbantului se îndepărtează de pe placă. Utilizînd această tehnică se pot separa impurităţi aflate în proporţie sub 1% [33, 55].

9.10. Tehnica developării cu gradient

În developarea cu gradient, se variază continuu sau în trepte compoziţia developantului [1, 8, 56, 57], compoziţia adsorbantului [8, 10, 58, 59], sau temperatura [60—62].

Uneori este avantajos să se modifice compoziţia developantului în timpul cromatografierii. În acest scop este necesar ca un anumit dizolvant, o soluţie sau un amestec de dizolvanţi, să se introducă continuu sau treptat în cuva cromatografică şi, în acelaşi timp, un dispozitiv de agitare să omogenizeze developantul. De asemenea, este nevoie de un tub preaplin prin care excesul de developant să fie îndepărtat pentru a evita spălarea şi antrenarea petelor de substanţă de pe placa cromatografică. În acest scop, Wieland şi

Scanned with OKEN Scanner

colab. [56] prezintă o cameră cromatografică improvizată (fig. 41), iar un dispozitiv standardizat furnizează firma Desaga.

Cu ajutorul acestei tehnici, se pot obține efecte variate, ca modificarea continuă a polarității unui developant, a valorilor *p*H, a concentrației ionice a unei soluții tampon etc. [56, 63—65].

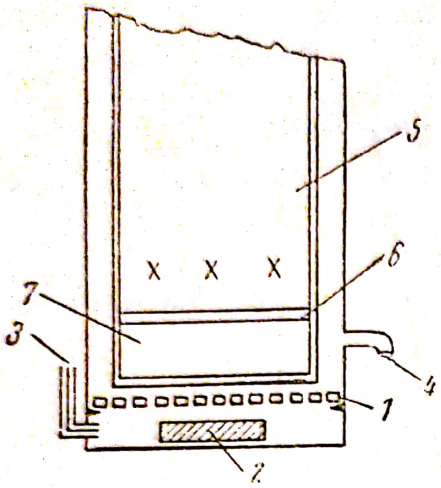


Fig. 41. Secțiune transversală prin partea inferioară a cuvei cromatografice utilizată la developarea cu gradient (reproducere după Kirchner [3]):

1 — placă filtrantă; *2* — agitator magnetic; *3* — tub pentru introducerea dizolvanților; *4* — preaplin; *5* — placă cromatografică (5×20 cm); *6* — bandă de cauciuc; *7* — fișie de hîrtie de filtru (1,5×5 cm).

În alte cazuri este avantajos să se modifice continuu sau treptat compoziția stratului de adsorbant sau grosimea lui. Aceasta se poate face prin trecerea treptată de la un adsorbant la altul, sau folosind același adsorbant cu treceri treptate de la adsorbant simplu la adsorbant impregnat cu diferite substanțe (agenți complexanți, soluții acide, bazice, tampon, faze staționare diferite etc.) [33, 59, 60]. Pentru prepararea straturilor cu gradient se folosesc dispozitive speciale Desaga de întindere a adsorbanților, iar pasta se prepară după tehnicile uzuale descrise în cap. 7. Dispozitivul furnizat de firma Desaga în acest scop („G.M."-Spreader) este asemănător cu cel din figura 13 pentru prepararea straturilor cu grosime variabilă, avînd în plus cîteva accesorii [10]. Developînd normal asemenea straturi în direcția gradientului, proprietățile fazei staționare se vor modifica continuu sau în trepte, de la start pînă la frontul developantului. Developarea se face de la adsorbantul inactiv (de exemplu, kieselgur) la cel activ (silicagel, oxid de aluminiu etc.) sau invers.

În cazul straturilor cu gradient de *p*H, în funcție de efectele ce se urmăresc, developarea se poate face în direcția acid→bază, sau invers [8, 58].

Developarea cu gradient de temperatură a fost mult studiată la noi în țară de către Liteanu și colab. [60, 61], atît pentru cromatografia pe hîrtie cît și pentru cromatografia în strat subțire. Autorii au efectuat cercetări interesante cu privire la comportarea și

Scanned with OKEN Scanner

separarea unui număr mare de substanţe anorganice în aceste condiţii. Tehnica constă în creşterea treptată a temperaturii în interiorul cuvei de developare, aceasta fiind izolată termic pentru a împiedica variaţiile de temperatură prin schimb cu mediul exterior. În general, s-a constatat că folosind această tehnică creşte puterea de rezoluţie şi zonele de substanţă sînt simetrice [62, 66].

9.11. Tehnica developării polizonale

Developarea polizonală a fost introdusă în cromatografia în strat subţire de către Niederwieser şi Brenner [11]. Tehnica se bazează pe faptul că în developanţii formaţi dintr-un număr mare de dizolvanţi, se formează pe suprafaţa stratului mai multe zone (fronturi) ale amestecului de dizolvanţi. Acest fapt se explică prin afinitatea diferită (selectivă) a adsorbantului pentru dizolvanţii din develo-

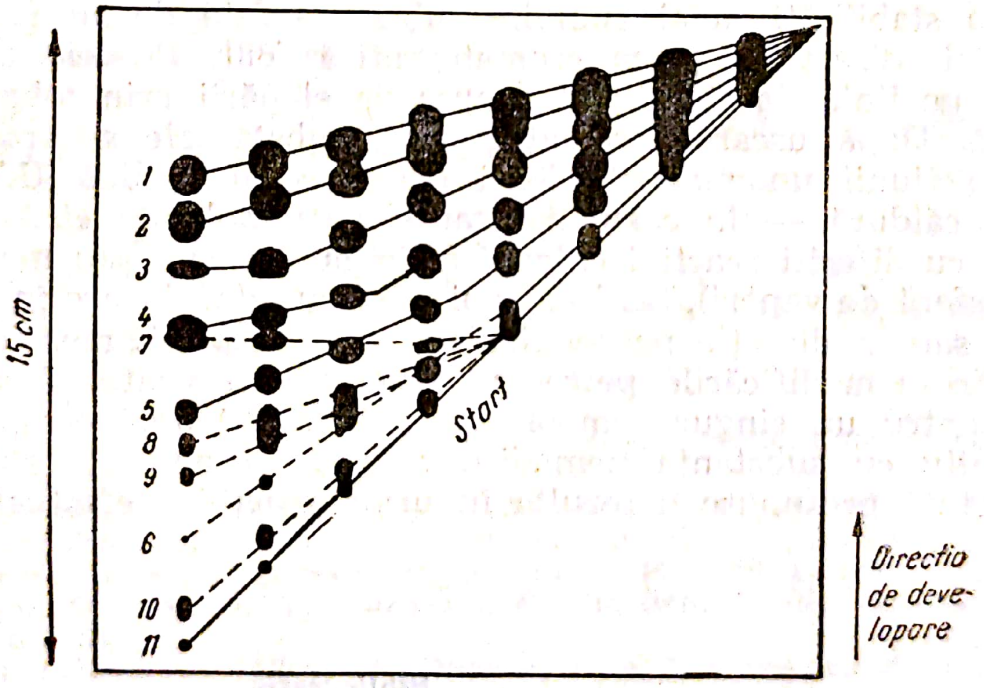


Fig. 42. Developarea polizonală.

pant. Ca urmare, substanţele aplicate în locuri diferite pe suprafaţa stratului vor fi developate în mod diferit, datorită variaţiei compoziţiei developantului în timpul migrării prin stratul adsorbant. Din această cauză, în tehnica polizonală, aplicarea probelor pe placa cromatografică se face pe diagonală (fig. 42), iar developantul, aşa

Scanned with OKEN Scanner

cum s-a arătat, este întotdeauna un amestec de mai mulţi dizolvanţi. Cu această tehnică se pot obţine efecte de separare foarte variate.

De asemenea, se poate folosi pentru developare tehnica în trepte. Se face o primă developare într-un developant nepolar, apoi se usucă şi se developează într-un amestec polar. Cuvele folosite pentru cromatografia orizontală (v. cap. 9.3.) sînt foarte potrivite pentru astfel de separări. Jgheabul lateral pentru developant fiind compartimentat, se poate efectua simultan separarea, într-un număr de developanţi cu polarităţi variabile, sau în acelaşi developant, obţinînd efecte de separare din cele mai variate pe o singură cromatogramă [3].

9.12. Tehnica developării S.R.S. (separare-reacţie-separare)

Astfel denumită de către Stahl [67], această tehnică permite studierea stabilităţii unei anumite substanţe faţă de agenţii fizici şi chimici, direct pe placa cromatografică [68]. Probele aplicate obişnuit pe linia de start, sînt supuse developării prin tehnica ascendentă. După uscarea cromatogramei, substanţele separate sînt supuse acţiunii unor agenţi fizici (iradiere cu lumină U.V. sau raze X, căldură — în cazul substanţelor termolabile etc.) sau se tratează cu diferiţi reactivi chimici (prin pulverizare sau menţinere în atmosferă de vapori). Se face apoi o a doua developare în aceeaşi direcţie sau în direcţie perpendiculară pe prima (bidimensional) şi se urmăresc modificările petrecute. Operaţia se poate efectua selectiv pentru un singur component analizîndu-i apoi comportarea comparativ cu substanţa nemodificată sau cu anumite substanţe de referinţă presupuse a rezulta în urma reacţiilor efectuate [33].

Bibliografie

1. *Procházka, Z.* Chem. Listy, **55**, 1961, p. 974.
2. *Davidek, J., Davidková, E.* Pharmazie, **16**, 1961, p. 352.
3. *Kirchner, J. G.* Thin-Layer Chromatography Technique of Organic Chemistry, vol. XII, Editor Weissberger A. New York, Interscience Publishers, 1967, p. 104.
4. *Mistryukov, E. K.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 311.

Scanned with OKEN Scanner

5. *Tamaş-Pelloni, V., Iohan, F.* (lucrare nepublicată).
6. *Göldel, L., Zimmermann, W., Lommer, D. Hoppe-Seylers,* Z. physiol. Chem., **333**, 1963, p. 35.
7. *Seikel, M. K., Millett, M. A., Saeman, J. F.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 115.
8. *Randerath, K.* Thin-Layer Chromatography. New York, Academic Press, 1966, p. 49.
9. *Stanley, W. L., Vannier, S. H.* J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, **40**, 1957, p. 582.
10. *Stahl, E.* Dünnschicht-Chromatographie — ein Laboratoriumsbuch, Ed. II, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
11. *Niederwieser, A., Brenner, M.* Experientia, **21**, 1965, p. 50.
12. *Mistryukov, E. A.* Collection. Czechoslov. Chem. Commun., **26**, 1961, p. 2071.
13. *Brenner, M., Niederwieser, A.* Experientia, **17**, 1961, p. 237.
14. *Ismailov, N. A., Schraiber, M. S.* Farmatsiya, **1938**, p. 1.
15. *Meinhard, J. E., Hall, N. F.* Anal. Chem., **21**, 1949, p. 185.
16. *Bryant, L. H.* Nature, **175**, 1955, p. 556.
17. *Stahl, E.* Angew. Chem., **73**, 1961, p. 646.
18. *Tănase Ioana,* Tehnica cromatografică. Amino-acizi, proteine, acizi nucleici. București, Editura tehnică, 1967.
19. *Korzun, B. P., Brody, S.* J. Pharm. Sci., **53**, 1964, p. 454.
20. *Peyrou,* Bull. Soc. Chim. France, **1966**, p. 1494.
21. *Anet, E. F. L. J.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 291.
22. *Tamaş-Pelloni, V.* (lucrare nepublicată).
23. *Honnegger, C. G.* Helv. Chim. Acta, **44**, 1961, p. 173.
24. *Bergel'son, L. D., Dyatlovitskaya, E. V., Voronkova, V. V.* Izd. Akad. Nauk S.S.S.R., Otd. him. nauk, **1963**, p. 954.
25. *Pataki, G.* Ergeb. Laboratoriumsmed., **2**, 1964, p. 163.
26. *Von Arx, E., Neher, R.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 329.
27. *Carisano, A.* J. Chromatog., **13**, 1964, p. 83.
28. *Keller, M., Pataki, G.* Helv. Chim. Acta, **46**, 1963, p. 1687.
29. *Bergmann, E. A., Ikan R., Havel, S.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 204.
30. *Urbach, G.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 196.
31. *Dhont, J. H., De Rooy, C.* Analyst, **86**, 1961, p. 74.
32. *Mulé S. J.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 1907.
33. *Tamaş-Pelloni, V.* Referat susținut la Fac. de Chimie, Catedra de Chimie Organică, Universitatea București, 1968.
34. *Ryabchikov, D. I., Volynets, M. P.* Zh. Anal. Khim., **21**, 1966, p. 1348.
35. *Lesizang-Buchtela, M.* Oesterr. Chemiker-Ztg., **67**, 1966, p. 115.
36. *Dulămiță, N.* Studii și cercetări de chimie, **16**, 1968, p. 183.
37. *Bottura, G., Breccia, A., Marchetti, F., Spalletti, F.* Ric. Sci., Rend. Ser. **A. 6**, 1964, p. 373.
38. *Tamaş-Pelloni, V., Albert, F., Nițelea, I.* A V-a Sesiune de comunicări științifice I.C.C.F., 1967.
39. *Cămărașu, C., Tamaş-Pelloni, V.* Studiul prin C.S.S. a unor derivați ai acidului nicotinic (lucrare nepublicată).
40. *Roessel, T.* Z. Anal. Chem., **197**, 1963, p. 333.
41. *Mottier, M., Potterat, M.* Anal. Chim. Acta, **13**, 1955, p. 46.
42. *Tamaş-Pelloni, V., Simionovici, R., Mihalaș, E., Aftalion, H.* Lucrările Conferinței Republicane de Chimie Analitică, Constanța, septembrie 1969.
43. *Thoma, J. A.* Anal. Chem., **35**, 1963, p. 214.
44. *Thoma, J. A.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 441.
45. *Stárka, L., Hampl, R.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 347.

Scanned with OKEN Scanner

Partea a treia

Aplicarea C.S.S. la separarea substanțelor organice

10. Reactivi generali de identificare

Ținînd seama de importanța practică a punerii în evidență a substanțelor separate prin C.S.S. (v. cap. 8.2) se prezintă, în afara reactivilor specifici sau generali indicați pentru diferitele grupe de substanțe (v. coloana 4 din tabele), și o clasificare separată a celor mai generali reactivi de identificare care pot fi utilizați în C.S.S.

Modul de lucru general, pentru reactivii de identificare este descris pe larg în capitolul 8.2 (după uscarea cromatogramei pentru îndepărtarea fazei mobile utilizate, aceasta se pulverizează cu soluțiile reactivilor de identificare sau se expune la vaporii acestor reactivi), astfel că în această clasificare nu se menționează decît condițiile mai speciale: încălzirea cromatogramei la o anumită temperatură după pulverizarea cu acești reactivi și uscarea ei, expunerea la lumină U.V. (în cazul utilizării unei anumite lungimi de undă, se specifică acest lucru), sau pulverizarea ulterioară cu alt reactiv etc.

Sursa bibliografică nu s-a mai menționat, aceasta fiind foarte greu de stabilit, deoarece acești reactivi sînt folosiți de multă vreme în C.S.S., de numeroși cercetători, iar unii dintre ei sînt fie adaptați din cromatografia pe hîrtie, fie modificați de autor.

Scanned with OKEN Scanner

10.1. Reactivi care acţionează prin distrugerea (carbonizarea) substanţelor organice

— H_2SO_4 conc. şi încălzire la 110°C. Petele obţinute se observă apoi la lumina zilei sau în lumină U.V.

— H_2SO_4 50% şi încălzire la 200°C şi apoi expunere la lumină U.V.

— H_2SO_4 conc.: anhidridă acetică (1 : 3) şi încălzire la 100°C.

— H_2SO_4 conc.: AcOH(1 : 1) şi încălzire la 100°C.

— H_2SO_4 20% în H_2O : EtOH(1 : 1) şi încălzire la 100°C.

— $Na_2Cr_2O_7$ 3 g în 20 ml H_2O+10 ml H_2SO_4 conc. şi încălzire (atenţie, pericol de explozie).

— $K_2Cr_2O_7$ 5% în H_2SO_4 40% şi încălzire la 150°C (atenţie, pericol de explozie).

— H_2CrO_4 sol. sat. în H_2SO_4 conc. şi încălzire la 150°C (atenţie, pericol de explozie).

— $HClO_4$ 2% sau 25% şi încălzire la 150°C.

— $HClO_4$ 70% (prin migrarea reactivului pe cromatogramă perpendicular pe direcţia de migrare a fazei mobile).

— HNO_3 5% în H_2SO_4 şi încălzire la 100°C.

— HNO_3 : H_2SO_4 (1 : 1) şi încălzire la 100°C.

— $KMnO_4$ 0,5 g dizolvat în 15 ml H_2SO_4 conc. (atenţie, pericol de explozie).

10.2. Reactivi cu iod, indicaţi pentru compuşi organici care absorb iodul sau care reacţionează chimic cu el (substanţe reducătoare)

— Vapori de iod (expunerea cromatogramei într-un vas închis în care se află cristale de iod).

— Vapori de iod (5 min), apoi menţinerea ei în aer (5 min), pulverizare cu sol. de amidon 1% în $CHCl_3$.

— Iod 1% în MeOH sau iod 0,5% în $CHCl_3$.

— Benzidină 0,5% în EtOH abs. şi apoi pulverizare cu soluţie de iod 1% în MeOH.

— Sulfat de aluminiu 20%, apoi expunere peste noapte la vapori de iod; în continuare se menţine 1 oră la aer şi se pulverizează cu soluţie de amidon 0,5% în H_2O.

— Iod 1% în EtOH 96% şi încălzire 30 min la 100°C (indicat în special pentru imidazoli N-substituiţi).

Scanned with OKEN Scanner

— Iod 0,2% în KI 0,4% în apă.

— Iod 0,1 N : H_2SO_4 10% (1 : 1) (indicat în special pentru compuşi cu azot, polietilenglicoli şi derivaţi).

— Azidă de sodiu 3,5% în sol. apoasă de iod 0,1 N, apoi pulverizare cu amidon 1% în H_2O (atenţie, pericol de explozie), sau azidă de sodiu 1% în soluţie apoasă de iod 0,005 N apoi pulverizare cu amidon 1% în H_2O (indicat pentru compuşi organici cu sulf).

— KI 1,1% în acid hexacloroplatinic (IV) 0,135% (indicat în special pentru compuşi organici cu sulf şi pentru alcaloizi).

— Acid hexacloroplatinic 10% 3 ml+97 ml H_2O+100 ml KI 6% în H_2O (indicat pentru alcaloizi şi heterocicli cu azot).

— Expunerea cromatogramei uscate, 1 min, în atmosferă de vapori de clor ($KMNO_4$+HCl), îndepărtarea excesului de clor prin menţinerea, 2 min, la aer, apoi pulverizare cu soluţie apoasă de KI 1% : amidon 3% (1 : 1) (indicat pentru compuşi organici cu hidrogen activ la azot).

10.3. Reactivi pentru compuşi reducători

— Soluţie alcoolică de acid fosfomolibdenic 1,5%; 5%; 10% şi 20%. Petele se observă direct sau după încălzire la 100°C (pentru albirea fondului se poate expune cromatograma la vapori de amoniac).

— Acid fosfomolibdenic 5—10%, încălzire la 120°C şi pulverizare din nou cu NH_4OH 25%.

— Soluţie $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în EtOH 50%; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 5% în EtOH (2 : 1). Cromatograma se expune la vapori de amoniac sau DEA pentru menţinerea coloraţiei, sau preferabil prin pulverizarea cromatogramei cu fluoresceinat de sodiu 0,04% în H_2O : NH_4OH conc. (4 : 1).

— Soluţie $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în H_2O : $FeCl_3$ 2% în H_2O (1 : 1) urmată de o nouă pulverizare cu HCl 2 N.

— Amestec (1 : 1) din soluţiile a şi b:

a) $AgNO_3$ 0,1 N : NH_4OH 2 N : NaOH 2 N (1 : 1 : 2);

b) $KMnO_4$ 0,5 g, Na_2CO_3 1 g dizolvat în 100 ml H_2O.

— $AgNO_3$ 0,05 N, apoi o nouă pulverizare cu soluţie de CH_2O 37% în H_2O.

— Soluţie apoasă de KOH 2 N şi încălzire 30 min. la 130°C, apoi se pulverizează cu amestec (1 : 1) de HNO_3 conc. : H_2O_2 30% şi se expune cromatograma la lumină U.V. (indicat în special pentru combinaţii organice halogenate).

Scanned with OKEN Scanner

— Soluție de clorură de 2,3,5-trifeniltetrazoliu 4% în MeOH : NaOH 1 N (1 : 1), încălzire 10 min la 110°C (indicat în special pentru zaharuri, steroizi, glicozizi, tioacizi).

— $KMnO_4$ 0,05% în H_2O (indicat pentru compuși ușor oxidabili).

— $KMnO_4$ 0,5% în NaOH 1 N, și încălzire 10 min la 100°C (indicat în special pentru zaharuri și polioli).

— $KMnO_4$ 1% : Na_2CO_3 1% (1 : 1) (eventual pulverizare ulterioară cu H_2O și încălzire la 100°C (indicat pentru substanțe oxidabile și acizi aromatici).

10.4. Indicatori de fluorescență și luminiscență

— Fluoresceină 0,2% în EtOH abs. și expunere la lumină U.V.

— Fluoresceină 0,01% în EtOH și expunere imediată la lumină U.V. (indicat în special pentru lipide).

— Fluoresceinat de sodiu 0,04% în H_2O și expunere la lumină U.V.

— Fluoresceinat de sodiu 0,05% în MeOH 50% și expunere la lumină U.V. (indicat în special pentru compuși aromatici și heterociclici).

— Fluoresceinat de sodiu 0,04% în apă (adăugat în loc de apă la prepararea pastei de adsorbant); cromatograma se expune după îndepărtarea fazei mobile, prin uscare, la vapori de brom și apoi la lumină U.V. (indicat pentru substanțe nesaturate, în special lipide).

— 2,7-Diclorfluoresceină 0,2% în EtOH și expunere la lumină U.V. (indicat în special pentru lipide saturate și nesaturate; în cazul celor din urmă se poate expune ulterior la vapori de brom).

— Rodamină B 0,5% în EtOH folosită pentru cromatogramele preparate cu fluoresceinat de sodiu. După uscare, pulverizare cu Na_2CO_3 10% în H_2O și expunere la lumină U.V. (indicată în special pentru hidrocarburi clorurate, hetorocicli, lipide etc.).

— Rodamină B 0,05% sau 0,5% în EtOH și expunere la lumină U.V. (indicată în special pentru lipide).

— Morină 0,1% în EtOH abs. și expunere la lumina U.V.

— Morină 0,05% în EtOH și expunere la lumină U.V. sau pulverizare cu BnOH : Me_2CO (1 : 1).

— Difenilaminosulfonat de bariu 200 mg în circa 5 ml și se aduce la 100 ml cu MeOH și expunere directă la lumină U.V. (254 nm) sau după încălzire 10 min la 110°C (indicat pentru heterocicli).

Scanned with OKEN Scanner

— N-Bromsuccinimidă 0,035% în 1,1,1-tricloretan apoi o nouă pulverizare cu fluoresceină 0,33% în NaOH 0,1 N şi expunere la lumină U.V. (indicat în special pentru compuşi organici cu sulf).

— N-Bromsuccinimidă 0,5% în AcOH, o nouă pulverizare cu fluoresceină 0,01% în EtOH. Petele se observă direct sau la lumină U.V. (indicat în special pentru lipide).

— 4-Metil-umbeliferonă 20 ml+35 ml EtOH adus la 100 ml cu H_2O şi expunere după pulverizare la vapori de amoniac şi în continuare la lumină U.V. (indicat în special pentru heterocicli cu azot).

— Galben pinacriptol 0,05% în H_2O şi expunere la lumină U.V. (indicat pentru acizi alchil- şi arilsulfonici şi pentru alcooli).

— Cromatograma se expune 30 s în atmosfera vaporilor soluţiei de brom 5% în CCl_4 apoi se pulverizează cu soluţie de fluoresceină 0,25% în dimetilformamidă (1 ml în 50 ml EtOH) şi în continuare se pulverizează cu o soluţie formată din 1,7 g $AgNO_3$ în 5 ml H_2O+ +10 ml 2-fenoxietanol, completînd volumul la 200 ml cu acetonă. Cromatograma se expune apoi 7 min la lumină U.V. (366 nm) (indicat în special pentru compuşi cloruraţi, ioduraţi).

— Reactivi de luminiscenţă „ZS-Super" 1—2% adăugat la prepararea pastei de adsorbant şi expunere la lumină U.V.

— Reactivi de luminiscenţă — silicat de zinc tip P_1 118-2-7 0,8% adăugat la prepararea pastei de adsorbant şi expunere la lumină U.V.

10.5. Indicatori de *p*H

După uscarea cromatogramei, aceasta se pulverizează cu o soluţie alcoolică 0,05% de indicator de *p*H: albastru de bromfenol, albastru de bromtimol, verde de bromcrezol etc. (Atenţie la îndepărtarea completă a developanţilor acizi şi bazici!). Pentru identificarea compuşilor acizi, *p*H-ul soluţiei se aduce cu soluţie NaOH 0,1 N, la *p*H 7—8, iar pentru cei bazici sau pentru săruri ale acizilor în sisteme alcaline, *p*H-ul rămîne acelaşi, sau se micşorează puţin prin adăugarea de acid citric 0,1 g (la 100 ml soluţie de indicator).

10.6. Alţi reactivi semigenerali

— $SbCl_5 : CCl_4$ (2 : 8) şi încălzire la 120°C (indicat în special pentru substanţe greu reacţionabile, ca terpene, uleiuri, răşini).

Scanned with OKEN Scanner

— $SbCl_3$: AcOH glacial (1 : 1) și încălzire 5 min la 95°C (indicat în special pentru steroide).

— $SbCl_3$: $CHCl_3$ (fără EtOH) (1 : 3) sau soluție saturată de $SbCl_3$ în CCl_4, și încălzire 10 min la 100°C apoi expunere la lumină U.V. (indicat în special pentru glicozizi, steroizi și vitamină A).

— Vanilină 1% în acid percloric 10% și încălzire 5—7 min la 110°C (indicat pentru steroizi și oxocompuși).

— Vanilină 1% în H_2SO_4 conc. și încălzire la 120°C (indicat în special pentru alcooli superiori, oxocompuși, steroizi, uleiuri eterice).

— Vanilină 1,5% în EtOH + 0,5 ml H_2SO_4 conc., și încălzire 10 min la 110°C (indicat pentru compuși epoxi, eteri, fenoli oxocompuși).

— H_2O (indicat pentru lipide).

— Tetracianoetilenă 0,5% în AcOEt (indicat pentru compuși aromatici).

11. Separarea și identificarea principalelor grupe de substanțe organice

În prezentarea acestei părți aplicative, s-a renunțat la forma descriptivă pentru condițiile de lucru și s-au sistematizat sub formă de tabele toate condițiile experimentale de C.S.S. recomandate pentru o anumită grupă de substanțe sau substanțe individuale. Acest fapt prezintă avantajul de a putea găsi cu multă ușurință și rapiditate principalele condiții de lucru necesare pentru o anumită separare, precum și condițiile de identificare a substanțelor separate. Totodată dă posibilitatea prezentării unui volum foarte mare de date într-un spațiu redus.

Structura tabelelor este explicată în continuare. Fiecare tabel este format din 5 coloane în care sînt cuprinse: substanțele separate, fazele staționară și mobilă, reactivii folosiți pentru identificare și indicațiile bibliografice corespunzătoare.

Coloana 1 cuprinde clasa de compuși sau compușii individuali separați. În cazul separării mai multor tipuri de compuși, în con-

Scanned with OKEN Scanner

diţii diferite (faze staţionare şi mobile diferite) aceştia se notează cu litere.

Coloana 2-a cuprinde faza staţionară utilizată pentru cazul dat. În această coloană nu se specifică decît condiţiile diferite de cele standard (grosimea stratului de 0,250 mm şi activare 30 min la 110—120°C), astfel ca: uscarea la temperatura camerei sau activarea timp mai îndelungat a plăcilor cromatografice; impregnarea sau tratarea stratului cu diferite soluţii; grosimea stratului şi mărimea particulelor de adsorbţie. Toate aceste date sînt trecute în paranteză. De asemenea se specifică şi raportul neuzual adsorbant-apă (sau alte soluţii folosite pentru prepararea pastei de adsorbţie), posibilitatea utilizării mai multor faze staţionare se indică prin înşirarea lor, fără numerotare.

Coloana 3-a cuprinde faza mobilă utilizată (developantul), iar în paranteză este trecut raportul în volume al dizolvanţilor. Cînd se pot utiliza mai mulţi developanţi aceştia se notează cu cifre arabe. În cazul utilizării unor tehnici mai speciale, de exemplu bidimensională sau în trepte se indică ordinea utilizării lor prin notaţiile a) şi b) corespunzătoare celor două direcţii de migrare în primul caz, iar pentru cel de al doilea caz se notează ordinea succesivă a lor cu cifre arabe.

Coloana 4-a cuprinde posibilităţile de identificare ale compuşilor indicaţi în coloana 1. Reactivii recomandaţi se notează cu cifre arabe. În cazul pulverizării succesive cu mai mulţi reactivi de identificare se menţionează acest lucru. Se indică de asemenea formula de preparare a reactivilor daţi, iar în cazul în care se utilizează acelaşi reactiv la mai multe separări menţionate, nu se mai repetă aceasta.

Coloana 5-a cuprinde indicaţia bibliografică corespunzătoare condiţiilor experimentale date.

În prima parte a capitolului s-a făcut o clasificare după grupele funcţionale sau clasele de substanţe separate, iar în continuare o clasificare după domeniul de utilizare al compuşilor organici. De sigur, din cauza spaţiului limitat, indicaţiile referitoare la separarea acestor compuşi nu epuizează posibilităţile de analiză prin C.S.S. menţionate în literatura de specialitate. S-a căutat însă, în limita posibilităţilor, ca exemplele alese să fie cît mai reprezentative şi generale. S-au ales indicaţiile de literatură mai recente, presupunînd că acestea aduc o îmbunătăţire sau o completare a condiţiilor de lucru anterioare; de asemenea acelea verificate de noi, sau condiţii de lucru elaborate de noi.

De asemenea s-au prezentat condiţiile de separare şi identificare cele mai simple, verificate experimental ca cele mai adecvate.

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece spaţiul restrîns din cadrul tabelelor a impus o prescurtare a denumirilor folosite se indică în continuare aceste prescurtări.

abs.	— absolut
AFM	— acid fosfomolibdenic
AcOAm	— acetat de amil
AcOBn	— acetat de butil
AcOEt	— acetat de etil
AcOH	— acid acetic
AcOMe	— acetat de metil
AmOH	— alcool amilic
AN	— acetonitril
BF	— butilfenol
Bn_2O	— eter butilic
BnOH	— alcool butilic
p-DABA	— *p*-dimetilaminobenzaldehidă
3,5 DC*p*BCCI	— 3,5-diclor-*p*-benzochinonclorimină
2,6 DCCCI	— 2,6-diclorchinonclorimidă
DCDMS	— diclordimetilsilan
2,6 DCF	— 2,6-diclorfluoresceină
DD	— dodecan
DEA	— dietilamină
DFA	— difenilamină
DFC	— difenilcarbazidă
DMF	— dimetilformamidă
DMSO	— dimetilsulfoxid
3,5 DNB	— 3,5-dinitrobenzoat
2,4 DNFH	— 2,4-dinitrofenilhidrazină
2,4 DN*o*SBF	— 2,4-dinitro-*o*-*sec*-butilfenol
2,6 DN*p*SBF	— 2,6-dinitro-*p*-*sec*-butilfenol
EDA	— etilendiamină
EDTA	— etilendiaminotetraacetat
EP	— eter de petrol
Et_2O	— eter etilic
EtOH	— alcool etilic
FA	— formamidă
2-FOE	— 2-fenoxietanol
FOH	— acid formic
FOEt	— formiat de etil
8-HChi	— 8-hidroxichinolină
MEC	— metiletilcetonă
Me_2CO	— acetonă

Scanned with OKEN Scanner

MeOH	— alcool metilic
MFA	— metilformamidă
p-NBDF	— *p*-nitrobenzendiazoniu fluoroborat
4-N-2,6-DSBF	— 4-nitro-2,6-*di*-sec-butilfenol
PEG	— polietilenglicol
PMDA	— dianhidridă piromelitică
POE	— polioxietilenă
POEG	— polioxietilenglicol
PPG	— polipropilenglicol
$PrNH_2$	— propilamină
i-Pr_2O	— eter izopropilic
PrOH	— alcool propilic
Py	— piridină
sat.	— saturată
SBF	— *sec*-butilfenol
T	— toluen
TCE	— tetracianoetilenă
TClE	— tricloretan
TCDM	— tetracianochinodimetan
TD	— tetradecan
TFE	— trifluoretan
TFTC	— clorură de trifenil tetrazoliu
TEA	— trietilamină
TH	— tetrahidrofuran
TMUA	— acid tetrametiluric
TTClE	— tetracloretilenă
U	— undecan
UP	— ulei de parafină
US	— ulei de silicon

Scanned with OKEN Scanner

11.1. Hidrocarburi alifatice, aromatice, policiclice, terpene și derivați

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografie
1	2	3	4	5
Aducți cu $Hg(CH_3COO)_2$ ai olefinelor cu masă moleculară mică (etilenă, 2-amilenă, propilenă)	Silicagel G	PrOH : TEA:H_2O (50:25:25)	Difenilcarbazonă 2% în EtOH (80°C)	[1]
Acetați mercurici ai olefinelor polimerizabile*)	Silicagel G	MEC:PrOH: EtOH:NH_4OH conc. (10:1:4:7)	Expunere [illegible] vapori de HCl conc. 1[illegible] apoi stropire cu sol. 0,1% ditizonă în CCl_4	[2]
Hidrocarburi aromatice policiclice (separarea în grupe după numărul și așezarea ciclurilor aromatice): antracen + fenantren; piren; fluorantren; crisen + +1,2-benzantracen; 3,4-benzpiren + 1,2-benzpiren + + perilen; 1,12-benzperilen + antracen; 1,2,5,6-dibenzantracen; coronen	Alumină PF_{254}	Izooctan (migrare repetată)	Expunere la lumină U.V.	[3]

*) După prepararea aducților se îndepărtează excesul de acetat mercuric prin adăugarea unei soluții saturate de sulfat de hidrazină.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Hidrocarburi aromatice	Silufol (Kavalier n.p.-ceh) impregnat cu: 1) Sol. sat. TMUA 2) Sol. sat. cofeină 3) Sol. sat. PMDA în Ac. OET 4) Sol. sat. de cloranil în $CHCl_3$ 5) Sol. apoasă de desoxicolat de sodiu 6) Sol. TCE în Me_2CO	1) Bn_2O 2) TClE	1) Sol. sat. cloranil în $CHCl_3$ 2) Expunere lumină U.V.	[4]
Hidrocarburi aromatice policiclice: 3,4-benzpiren; 3,4-benzfluorantren; 1,2-benzantracen; 1,2-benzpiren	Celuloză MN-300 Ac 10 g+EtOH 50 ml, 15 min la aer	EtOH : $CHCl_3$: H_2O (20 : 10 : 1)	Expunere lumină U.V.	[5]
Hidrocarburi aromatice policiclice (din aer poluat)	Celuloză pulbere	DMF : H_2O*) (1 : 1)	Expunere lumină U.V.	[6]
Hidrocarburi aromatice policiclice	a) Alumină G b) Celuloză acetilată 26% (1/2 placă cu a) și 1/2 cu b) la 110°C, 1 oră	Bidimensional a) C_6H_{14}:Et_2O (19 : 1) pe a) b) MeOH : : Et_2O : H_2O (4 : 4 : 1) pe b)		[7]

*) Descreșterea cantității de apă favorizează separarea hidrocarburilor inferioare, iar creșterea, a celor superioare.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Hidrocarburi aromatice policiclice: antracen, piren, perilen, fluorantren + derivaţii lor, fenoren, fenantren	Silicagel + cofeină*) (ca agent de complexare), activare 2 ore la 120°C Alumină + 2,4,7-trinitrofluoren**) (agent de complexare), activare 3 ore la 150°C	1) EP (40—50°C) cu mici cantităţi de Py, anilină sau 2) EP cu mici cantităţi de Et_2O (1%) sau AcOH (0,04%)	1) Lumină U.V. 360 nm 2) Vapori de iod 3) H_2SO_4 sau HNO_3 la 180—200°C	[8]
Derivaţi naftalenici	Silicagel G 0,7 mm	C_6H_6 : Me_2CO (24 : 1)	1) Soluţie apoasă de fuxină (c.i. violet bazic) 2) Fuxină bazică (c.i. 14) violet bazic	[9]
Hidrocarburi aromatice policiclice (din fracţiuni de petrol)	Silicagel G Alumină G	1) C_6H_6 : MeOH (95 : 5) 2) C_6H_6 : AcOEt : FOH (75 : 24 : 5) 3) Idem (75:24:0,2) 4) Idem (75:24:0,1) 5) EP : DEA: (90 : 10) 6) Idem (98 : 2) 7) EP : Et_2O (98 : 2)	1) Lumină U.V. 2) Vapori de iod 3) AFM 20% în EtOH la 100°C	[10]

*) 0,5 g de placă cromatografică se dizolvă în apă caldă (50—60°C).
**) 0,5 g de placă cromatografică se dizolvă în 1—2 ml Me_2CO sau EtOH şi se adaugă în apa de la prepararea plăcilor cromatografice.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Hidrocarburi aromatice policiclice: antracen, piren, perilen, fluorantren + derivaţii lor, fenoren, fenantren	Silicagel + cofeină*) (ca agent de complexare), activare 2 ore la 120°C Alumină + 2,4,7-trinitrofluoren**) (agent de complexare), activare 3 ore la 150°C	1) EP (40—50°C) cu mici cantităţi de Py, anilină sau 2) EP cu mici cantităţi de Et_2O (1%) sau AcOH (0,04%)	1) Lumină U.V. 360 nm 2) Vapori de iod 3) H_2SO_4 sau HNO_3 la 180—200°C	[8]
Derivaţi naftalenici	Silicagel G 0,7 mm	C_6H_6 : Me_2CO (24 : 1)	1) Soluţie apoasă de fuxină (c.i. violet bazic) 2) Fuxină bazică (c.i. 14) violet bazic	[9]
Hidrocarburi aromatice policiclice (din fracţiuni de petrol)	Silicagel G Alumină G	1) C_6H_6 : MeOH (95 : 5) 2) C_6H_6 : AcOEt : FOH (75 : 24 : 5) 3) Idem (75:24:0,2) 4) Idem (75:24:0,1) 5) EP : DEA: (90 : 10) 6) Idem (98 : 2) 7) EP : Et_2O (98 : 2)	1) Lumină U.V. 2) Vapori de iod 3) AFM 20% în EtOH la 100°C	[10]

*) 0,5 g de placă cromatografică se dizolvă în apă caldă (50—60°C).
**) 0,5 g de placă cromatografică se dizolvă în 1—2 ml Me_2CO sau EtOH şi se adaugă în apa de la prepararea plăcilor cromatografice.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Hidrocarburi aromatice şi heterociclice + derivaţi fenolici şi compuşi ai antracenului	Porapak A, I, P, N (100/120 mesh; 120/150 mesh; 150/200 mesh; 200/325 mesh)	1) Ac. OEt 2) Me_2CO 3) Me_2CO : PrOH (1 : 1) 4) PrOH 5) EtOH	1) Lumină U.V. 2) TCDM 0,12% în AN anhidru 3) TCE 0,3% în benzen	[11
Hidrocarburi aromatice policiclice	Celuloză MN-300 HR impregnată cu DMF 20% în Et_2O Acetat de celuloză	Izooctan EtOH : T : H_2O (17:4:4)	Lumină U.V.	[12]
Fluoreni 2-substituiţi	Silicagel G Alumină G Celuloză MN-300 Celuloză MN-300 G/Ac	1) C_7H_{16} 2) CCl_4 3) CCl_4 : AcOEt (19 : 1) 4) CCl_4EtOH (19,8 : 0,2) 5) C_6H_6 6) C_6H_6 : AcOEt (19 : 1) C_6H_{17} MeOH:Et_2O: H_2O (4:4:1) EtOH:T:H_2O (17:4:4)	1) Lumină U.V. apoi stropire cu 1,3,5-trinitrobenzen 10% în Me_2CO 2) TCE 10% în C_6H_6 3) $SbCl_5$ 10% în $CHCl_3$ 4) CH_2O 37%, 2 ml + 100 ml H_2SO_4 conc.	[13]
Polifenili izomeri	Bentonă ; celită (2 g amestec + 30 ml T)	C_7H_{16}	Lumină U.V.	[14]
Polifenoli	Silicagel G	C_6H_{14} : CCl_4 (1 : 1)		[15]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Bifenili + terfenili	Grafit (Retortrusse U.R.S.S.)	Tetraclormetan	1) Lumină U.V. 2) Sol. sat. TCDM în AN	[16]
Terfenili + polifenili $[C_6H_5—(C_6H_4)_n—C_6H_5]$	Alumină G	C_7H_{16} (umiditatea mică favorizează separarea terfenilor, iar umiditatea mare favorizează separarea polifenililor cu punct de fierbere ridicat)	0,2% $Ce(SO_4)_2$ în HNO_3 conc.	[17]
Monoterpene	Silicagel G 40 g + sol. apoasă HNO_3 (80 ml) 0%; 6,25%, 12,5%; 18,75%; 25% (cel mai bun), 1 oră la 110°C	C_6H_6	$SbCl_5$ 10% în $CHCl_3$	[18]
Triterpene	Alumină 50 g+100 ml NaOH 10%, spălat cu H_2O apoi cu $HgCl_2$ apoi cu H_2O, 3 min la 110°C (0,5 mm)	1) C_6H_{14} : C_6H_6 (8 : 1) 2) C_6H_{12} : AcOEt (8,5 : 1,5) 3) C_6H_6 4) Et_2O 5) Et_2O : EtOH (98 : 2)	1) Sol. acetică de 2,4 DNFH 2) $SbCl_5$ 20% în $CHCl_3$ 3) Rodamină B 0,05% în H_2O 4) Lumină U.V.	[19]
Triterpene tetraciclice = cucurbitacine (produşi naturali din plante,	Silicagel GF_{254}	1) *i*-Pr_2O : Me_2CO (5 : 2) 2) C_6H_6 : dioxan :	1) Vanilină 2% în EtOH : H_3PO_4 85% : H_2O (1:2:8) 20 min la	[20]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
cu activitate antitumorală)		AcOEt (2 : 1 : 1)	120°C apoi expunere la lumină U.V. 365 nm și 254 nm 2) *p*-DABA 3) Sol. 3,5% $FeCl_3$ în EtOH	
Triterpene pentaciclice izomeri + esterii lor: amirin, gramisterin, citrostadienol, cicloartenol, simiaremol, taraxerol, fernenol, izoarborinol, taraxasterol, bauerenol, lupeol, arundoin, crusgallin, friedelin	Anasil B + H_2O (1 : 1,3), se agită 10 min se lasă peste noapte la temperatura camerei Silicagel D (VEB) Apolda (8% gips): $AgNO_3$ (9:1) 1 p. amestec + 4,7 p. H_2O Anasil B : $AgNO_3$ (99 : 1) 1 p. amestec +1,3 p. H_2O)	— C_6H_{14} : Et_2O (97 : 3) + 2 picături H_2O — C_6H_{14} : C_6H_6 (2 : 1) (pentru acetați) — C_6H_{14} : C_6H_6 (2 : 1) (pentru benzoați) — C_6H_{14} : Et_2O (97 : 3) +2 picături H_2O	H_3PO_4 : H_2SO_4 (1 : 1) + 10% H_2O + AFM 2%, 5 min la 110°C	[21]
Alcooli terpenici (ca 3,5-dinitrobenzoați)	Silicagel G	C_6H_6 : EP (1 : 1)	$SbCl_5$	[22]
Acetații diterpenelor fenolice	Silicagel G Alumină G	1) EP (65—110°C) 2) Diclormetan — Et_2O	$SbCl_5$, 2 min la cald	[23]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
cu activitate antitumorală)		AcOEt (2 : 1 : 1)	120°C apoi expunere la lumină U.V. 365 nm şi 254 nm 2) *p*-DABA 3) Sol. 3,5% $FeCl_3$ în EtOH	
Triterpene pentaciclice izomeri + esterii lor: amirin, gramisterin, citrostadienol, cicloartenol, simiaremol, taraxerol, fernenol, izoarborinol, taraxasterol, bauerenol, lupeol, arundoin, crusgallin, friedelin	Anasil B + H_2O (1 : 1,3), se agită 10 min se lasă peste noapte la temperatura camerei Silicagel D (VEB) Apolda (8% gips): $AgNO_3$ (9:1) 1 p. amestec + 4,7 p. H_2O Anasil B : $AgNO_3$ (99 : 1) 1 p. amestec +1,3 p. H_2O)	— C_6H_{14} : Et_2O (97 : 3) + 2 picături H_2O — C_6H_{14}:C_6H_6 (2 : 1) (pentru acetaţi) — C_6H_{14} : C_6H_6 (2 : 1) (pentru benzoaţi) — C_6H_{14}:Et_2O (97 : 3) +2 picături H_2O	H_3PO_4 : H_2SO_4 (1 : 1) + 10% H_2O + AFM 2%, 5 min la 110°C	[21]
Alcooli terpenici (ca 3,5-dinitrobenzoaţi)	Silicagel G	C_6H_6 : EP (1 : 1)	$SbCl_5$	[22]
Acetaţii diterpenelor fenolice	Silicagel G Alumină G	1) EP (65—110°C) 2) Diclormetan — Et_2O	$SbCl_5$, 2 min la cald	[23]

Scanned with OKEN Scanner

1. *Prey, V., Berger, A., Berbalk, H.* Z. Anal. Chem., **185**, 1962, p. 113.
2. *Braun, D., Vorendohre, Z. G.* Anal. Chem., **199**, 1963, p. 37.
3. *Biernoth, G.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 325.
4. *Libiekova, V., Stuchlik, M., Krasnec, L.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 278.
5. *Schaad, R., Bachman, R., Gilgen, A.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 121.
6. *Sawicki, E., Stanley, J. W., Elbert, W. C., Pfoff, J. D.* Anal. Chem., **36**, 1964, p. 497.
7. *Hidetsuru Matsushita, Yasutomo Suzuki.* Bull. Chem. Soc. Japan, **42**, 1969, p. 460.
8. *Berg, A., Larnova, J.* J. Chromatog., **16**, 1969, p. 157.
9. *Sliwiok J.* Mikochem. J. **13**, 1968, p. 405.
10. *Iohan, F., Onaca, I.* Metodă C.S.S. de studiere a hidrocarburilor aromatice policiclice din fracțiuni de petrol (lucrare nepublicată).
11. *Janak, J., Knbciova, V.* J. Chromatog. **33**, 1968, p. 132.
12. *White, R. H., Howard, J. W.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 108.
13. *Kan, R. J., Kirson, I., Bergmann, E.* J. Chromatog., **18**, 1965, p. 526.
14. *Ritter, F. J., Meyer, G. M., Geess, F.* J. Chromatog., **19**, 1965, p. 304.
15. *Schlitt, H.* Brev. belgian 623 751, 1963; C.A., 1964, p. 2492.
16. *Onuska, F., Janak, J.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 403.
17. *Geess, F., Schlitt, H., Ritter, J. F., Weimar, W. M.* J. Chromatog., **12**, 1963, p. 469.
18. *Lawrence, B. M.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 535.
19. *Huneck, Z.* J. Chromatog., **7**, 1962, p. 561.
20. *Zielinski, J., Konopa, J.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 540.
21. *Fischer, F., Hertel, R.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 274.
22. *Schantz, M. V., Juvonen, S., Oksanen, A., Hakamaa, I.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 364.
23. *Fraser, H. S., Swan, E. P.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 141.

Bibliografie suplimentară

Streibl, M., Stransky, K. Fette Seifen Anstrichmitt., **70**, 1968, p. 343 (olefine din ceruri naturale).

Short, D. G., Young, R. Analyst, **94**, 1969, p. 260 (hidrocarburi policiclice).

Boitnolt, J. K., Margulis, S. Bull. John Hopkins Hosp., **118**, 1966, p. 402; C.A. **66**, 1967, p. 44156 (hidrocarburi saturate).

Joger, J. Chem. Zvesti, **21**, 1967, p. 321 (hidrocarburi aromatice policiclice).

Pawlowska — Marzee, A. Chem. Anal., (Warsaw), **13**, 1968, p. 475 (hidrocarburi aromatice).

Reichert, J. K. Arch. Hyg Bakteriol, **15**, 1968, p. 365 (hidrocarburi aromatice policiclice din apă și sol).

Stanley, T. W., Morgan, M. J., Grisby, E. M. Environ Sci Technol., **2**, 1968, p. 701 (hidrocarburi aromatice policiclice din aerul orașelor).

Van Langermeersch, A. Chimie Analytique, **56**, 1968, p. 3 (hidrocarburi cancerigene).

Scanned with OKEN Scanner

Karleskiend, A. Chimie Analytique (Paris), **49**, 1967, p. 86 (alcooli triterpenici).
Schmith, C. G., Nan, C. A., Lawrence, C. H. Am. Ind. Hyg. Assve J., **29**, 1968, p. 242; C.A. **69**, 1968, p. 54 106 g (hidrocarburi aromatice policiclice din industria cauciucului).
Raaen, H. P. J. Chromatog., **44**, 1969, p. 522. (hidrocarburi aromatice+heterociclice).
Chatot, G., Jequier, W., Jay, M., Fontanges, R. J. Chromatog., **45**, 1969, p. 115.

11.2. Alcooli, glicoli, polioli și derivați

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Alcooli alifatici (C_8—C_{22}) (liberi+acetați)	Kiselgur G impregnat cu UP 10% în EP (40—60°C) uscare 15 min	1) Me_2CO : H_2O (75:25) saturat 80% cu UP 2) Idem (90 : 10) saturat 80% cu UP	15 min la 110°C apoi stropire cu sol. 1% AFM în EtOH, 5 min la 110°C	[1]
Alcooli alifatici saturați și nesaturați (C_{12}—C_{20})	Kiselgur G impregnat cu UP 10% în EP (50—60°C) Idem impregnat cu fracțiune petrol (240—250°C)	1) AcOH 85% 2) AcOH 90% 3) i-PrOH : EtOH : AcOH : H_2O (8:3:4:2) (saturat cu impregnant)	1) AFM 2) Rodamină B	[2]
Alcooli alifatici (C_{14}—C_{40}) (din ceruri)	Silicagel G 25 g+H_2O 43 ml, agitare 75 s, uscare 2 ore la 100°C, și apoi impregnare cu US 0,5% (Bayer pN 1000) sau cu US 10% în EP (40—60°C)	1) AcOH 90% : TD (1 : 1) (pentru C_{14}—C_{24}) migrare la 42°C 2) AcOH 96% : TD (1 : 1) (pentru C_{22}—C_{40})	Uscare rapidă în curent de aer cald apoi stropire cu amestec $KMnO_4$ 0,1 M : NaOH 10% (1 : 1)	[3]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		migrare la 60°C 3) Amestec AcOH 90% : AmOH (3 : 1) : TD (1 : 1) migrare la 42°C		
Grupa hidroxil alcoolică	Celuloză — MN-300 HR	C_6H_{14}:AcOEt (4 : 1)	*p*-Toluensulfonilclorură 5% în Py (anhidră) : T (1 : 1), apoi stropire cu sol. 4-(*p*-nitro-benzil)-piridină 2% în Me_2CO, după 1 min uscare în curent de aer cald şi stropire cu Na_2CO_3 1 M în H_2O	[4]
Alcooli acetilenici şi glicoli	Alumină	Et_2O : C_6H_6	Expunere la vapori I_2	[5]
Alcooli cu p.f. ridicat (de la sinteza izoprenului)	Alumină (grad de activitate II, 0,8 mm)	Et_2O : H_2O (1 : 1)	*p*-DABA, 0,5 g în 20 ml Et_2O + +80 ml H_2SO_4 conc. 30 min, la 90°C	[6]
Alcooli alifatici nesaturaţi (acetaţi mercurici)	Silicagel G cu $AgNO_3$	1) EP : Et_2O (80 : 20) 2) PrOH : AcOH : Py (150 : 1 : 1) 3) Diizobutilcetonă : AcOH (4 : 1		[7]
3,5 DNB* — alcooli alifatici (C_1—C_{14})	a) Silicagel G	Bidimensional		[8]

1	2	3	4	5
	b) Silicagel G impregnat cu UP (pe a doua direcţie)	— C_6H_{12} AnOEt (9 : 1) — AcOH : H_2O		
Xantogenaţii alcoolilor inferiori	Celuloză SS nr. 143	1) PrOH : Benzină (100—150°C): NH_4OH (60 : 30 : 20) 2) Idem (70 : 35 : 20) 3) Idem (60 : 20 : 20)	1) H_2SO_4 2 N : molibdat de amoniu 1% (1 : 1) (nestabil) 2) Sulfat de nichel 10%	[9]
Alcooli zaharici	Silicat de magneziu (Woelm)	1) PrOH : H_2O : $PrNH_2$ (5 : 3 : 2) 2) PrOH : H_2O : $CHCl_3$ (6 : 2 : 1) 3) PrOH : H_2O : MEC (2 : 1 : 1) 4) PrOH : H_2O (1 : 1)		[10]
Poliglicerine	Kiselgur cu acetat de sodiu 0,02 M 1,5 oră la 150°C	AcOEt : *i*-PrOH : H_2O (65 : 22,7 :12,3)	1) Metaperiodat de sodiu 0,1% 2) Benzidină 2,8 g+80 ml EtOH+70 ml H_2O+30 ml Me_2CO+1,5 ml HCl N 3) $AgNO_3$ 0,1 N : NH_4OH 5 N (1 : 1)	[11]

* O cantitate fixă de alcooli se refluxează 30—60 min cu un mic exces de 3,5-dinitrobenzoilclorură în C_6H_6. La 10 ml soluţie benzoică se adaugă 10 ml Py anhidră. După răcire, amestecul de reacţie este extras succesiv cu 125 ml H_2SO_4 0,1 M, 25 ml Na_2CO_3 0,5% şi H_2O. Se concentrează prin uscare.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Polioli : 1,3-propandiol; etilenglicol; 1,2-propilenglicol, 1,2,5-trihidroxipentan, 1,2, 4-butantriol, glicerină, mesoeritrol, D-manitol, dulcitol, D-sorbitol	Silicagel G 30 g+70 ml $Pb(NO_3)_2$ 0,1 M sau H_2O Silicagel H cu $Pb(NO_3)_2$ 0,1 M sau H_2O	1) EtOH saturat cu NH_3 gazos 2) EtOH : NH_4OH 32% : H_2O (21 : 2 : 0) 3) Idem (23,5 : 2,2 : 1) 4) Idem (23 : 2,2 : 2) 5) Idem (21 : 2 : 2,4) 6) Idem (21 : 2 : 3,5) 7) Idem (20 : 2 : 4)	$KMnO_4$ alcalin	[12]
Polioli* (derivaţi trimetilsilil eteri: glicerină, ribitol, anhidroribitol	Silicagel F_{254}	C_6H_6	1) Expunere la lumină U.V. 2) H_2SO_4 la 150°C	[13]
Glicoli : propilenglicol, etilenglicol, glicerină	Alumină G 70 g+100 ml H_2O (0,5 mm neactivat)	$CHCl_3$: T : AcOH	Periodat de sodiu 2% apoi după 1 min stropire cu clorhidrat de rozanilină 1%**)	[14]
1,2-Glicoli de alţi glicoli	Alumină G (grad de activare III-IV) impregnată cu borat de amoniu 3%	1) C_6H_{14} : Me_2CO (4 : 1) 2) Et_2O : EtOH (99 : 1) saturat cu H_2O	Vapori de I_2 30—60 min la 20°C apoi se lasă la temperatura camerei pînă dispare fondul	[15]
Polioli	Silicagel H+ +$Pb(NO_3)_2$ 0,1 M+H_2O	1) EtOH saturat cu NH_3 gazos 2) EtOH : H_2O NH_4OH	$KMnO_4$ alcalin	[16]

* Se dizolvă 5 mg ribitol în 0,2 ml Py+0,1 ml hexametildisilazan+0,05 ml trimetilsilil clorură. Se evaporă Py la 45°C şi se dizolvă produsul obţinut în cloroform.

** 30 min în curent de SO_2 şi apoi filtrare prin cărbune activ.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Alcooli polihidrici: 1,3- și 1,4-butandiol; 1,2- și 1,3-propandiol; etilenglicol, dietilenglicol, trietilenglicol, glicerină	Silicagel G	$Me_2CO : H_2O$ (49 : 1)	Oxidare cu bicromat de sodiu și apoi stropire cu acid 2-tiobarbituric	[17]

Bibliografie

1. *Bandyopodhyay, C., Chakrabarty, M. M.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 297.
2. *Kaufmann, H. P.* Fette, Seifen, Anstrichmit., **65**, 1963, p. 398.
3. *Scholz-Fette, G. H.* Fette, Seifen. Anstrichmit., **69**, 1967, p. 333.
4. *Pomonis, J. G., Severson, R. F., Freeman, P. J.* J. Chromatog., **40**, 1969, p. 78.
5. *Akhrem, A. A., Kuznețova, A. I., Titov, Y. A., Levina, I. S.* Izv. Akad. Nauk S.S.S.R., Otd. Him. Nauk, 1962, p. 657; C.A., **57**, 1962. p. 4003c.
6. *Turgel, E. O., Kuznețova, E. V.* Ch. Analit. Him., **20**, 1965, p. 1374.
7. *Hashimoto, A., Hirotani, A.* Mukai-Yuhagaku K., **15**, 1966, p. 206.
8. *Severin, M.* J. Chromatog., **24**, 1967, p. 101.
9. *Röhr, M. Chiari, D.* Mikrochem Acta, 1, 1967, p. 137.
10. *Grasshof, H.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 513.
11. *Seher, A.* Fette, Seifen, Antrich., **67**, 1965, p. 24.
12. *Gregory, N. L.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 342.
13. *Leibman, K. C., Artiz, E.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 757.
14. *Conacher, H. B. S., Rees, D. I.* Analyst, **91**, 1966, p. 55.
15. *Kucera, J.* Coll. Cechoslov. Chem. Commun., **28**, 1963, p. 1341.
16. *de Simone, V., Vicedomini, M.* J. Chromatog., **37**, 1968, p. 538.
17. *Misbet, M. A.* Analyst, **94**, 1969, p. 812.

Bibliografie suplimentară

Vamoș, J., Brantner, A., Szasz, G., Vegh, A. Acta Pharm. Hung., 38, 1968, p. 378 (metanol din etanol).

Dhont, J. H., Dijkman, G. J. C. Chem. Tech. Rev., **22**, 1967, p. 521 (serii alifatice omologe de alcooli).

Pollerberg, J. Fette, Seifen, Anstrichmit., **68**, 1966, p. 561 (alcooli alifatici din produse etoxilate).

Thoma, K., Rombach, M., Ullman, E. Sci. Pharm., **32**, 1964, p. 216, (propilenglicoli omologi).

Dallas, M. S., Stewart, M. F. Analyst **92**, 1967, p. 634 (poliglicerine).

Mehlitz, A., Gierschnerk H., Minas T. Chemiker Ltg., **89**, 1967, p. 175 (3,5-DNB saturați și nesaturați).

Emelyanov, N. P., Belskaya, R. I., Taborisskaya, E. A. Vestsi. Akad. Nauk

Scanned with OKEN Scanner

Bielorus. S.S.R., Ser. Him. Nauk, nr. 1, 1968, p. 126; C.A., 69, 1968, p. 26837c (ciclohexanol).
Mattioni, R., Valentinis, G. Ind. Aliment. (Pinerolo, Italy), 7, 1968, p. 65; C.A., 69, 1968, p. 64487w (sorbitol și manitol).
Dunphy P. J., Kerr J. D., Pennock J. F., Whittle K. J., Geeney J. Biophys. Acta, 136, 1967, p. 136 (alcooli izoprenopoliprenici din surse naturale).
Buzlanova, M. M., Ulyanova, V. N., Obtemperanskaya, S. I. Zh. Analyst. Him. 23, 1968, p. 1425 (derivați 3-alcoxipropionitrilici ai alcoolilor).
Freytag, W., Ney, K. H. J. Chromatog. 41, 1969, p. 473 (alcooli secundari alifatici, derivați, N-feniluretanici).

11.3. Aldehide, cetone, derivați

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Aldehide (C_5—C_{14}) Aldehide (C_{10}—C_{14})	Silicagel G Silicagel G impregnat cu undecan	C_6H_6 1) MeOH : H_2O (7 : 3) (pentru aldehide superioare conținutul de apă descrește) 2) Bidimensional a) EP : Et_2O : AcOH (97:2:1) b) MeOH : H_2O : AcOH (7:3:2)	1) AFM 10% în EtOH, 30 min la 120°C	[1]
Aldehide, cetone, omologi	Silicagel G Silicagel G impregnat cu undecan	Bidimensional a) C_6H_6 : AcOH (99 : 1) b) EP : Et_2O (98 : 2) Bidimensional a) AN:AcOH (3 : 1) b) MeOH : H_2O (9 : 1)		

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Alcanone (C_9—C_{18}) Alcan-3-one (C_{10}—C_{20})	Silicagel G Silicagel G impregnat cu undecan Silicagel G	C_6H_6 1) MeOH : H_2O (9 : 1) 2) AN : H_2O 3) AN : AcOH (3 : 1) Bidimensional a) C_6H_6 b) MeOH		
Aldehide aromatice	Alumină (grad de activare III)	1) C_6H_6 : EtOH (98 : 2) 2) C_6H_6 : EtOH (95 : 5) 3) C_6H_6 : EtOH (90 : 10) 4) $CHCl_3$		[2]
Dicetone : acetil-cetonă, acetonil-acetonă, diacetil-cetonă, foronă	Alumină (fără liant)	C_6H_{14} : Me_2CO (4 : 1)		[3]
Alchilciclohexa-none	Alumină neutră	C_6H_6 : EP (1 : 3)	Expunere la vapori de I_2	[4]
Cetone cu masă moleculară mare : fenil-2-propanonă, 4-metilacetofe-nonă, *trans*-4-fenil-3-buten-2-onă, 1-fenil-1,3-butandionă, hexanofenonă, fenil-2-tienil-cetonă, 4- fenil-acetofenonă, 2-tridecanonă	Amberlit CG-400, (200—400 mesh-anio-nit puternic bazic — sare cuaternară de amoniu)	MeOH sau acetonă 12 M: 14 M; 17 M; 19 M; 22 M; 6 M; 8 M;	Soluţie bazică de acid 3,5-dinitro-benzoic în MeOH	[5]

1	2	3	4	5
2,4-Dinitrofenil-hidrazonele* hexanalilor și heptanalilor (izometri de poziție și geometrici)	Silicagel G impregnat cu $AgNO_3$ 30%	Benzen		[6]
2,4-DNFH, aldehide și cetone (C_1—C_{10})	Silicagel G	1) CCl_4 : C_6H_{14} : AcOEt (10 : 2 : 1) 2) EP (40—60°C) : *i*-Pr_2O (22 : 3) (pentru derivați superiori) 3) C_6H_6 : C_6H_{14} (3 : 2) (pentru derivați aromatici)	Fericianură de potasiu 0,2%: clorură ferică 0,1% în HCl 2 N	[7]
2,4-Dinitrofenil-hidrazonele compușilor mono-(*a*) și dicarbonilici (*b*) alifatici, 1,2-dicetonelor (*c*), α-dicetonelor (*d*), seriilor omologe ale metilcetonelor, aldehidelor saturate, 2-enalilor și 2,4-dienalilor (*e*)	— Magnezie : celită (3 : 7), uscare la aer 48 ore (pentru *a*) sau 30 min la aer, apoi 1 oră la 100°C (pentru *b*) — Microcel T-38 15 g + POEG 400 12,5 ml	1) C_6H_{14} : $CHCl_3$ (19 : 5) 2) $CHCl_3$: MeOH (19 : 1) 1) C_6H_6 : C_6H_{14} (3 : 2) saturat cu POEG (pentru c)		[8]

* Prepararea 2,4-dinitrofenilhidrazonelor: 13—17 mg compus carbonilic este refluxat pe o baie de apă circa 30 min cu 25 ml soluție de 2,4-dinitrofenilhidrazină (100 mg 2,4 DNFH + 550 mg acid oxalic în MeOH, la 50 ml soluție).

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	în EtOH 70 ml, uscare la aer, apoi 5 min la 100°C — Microcel T-38 15 g + POEG 400 12,5 ml în KOH 1% metanolic 65 ml, uscare la aer	2) C_6H_6 : C_6H_{14} (1 : 3) saturat cu POEG (pentru *d*) 3) C_6H_{14}-saturat cu POEG (pentru *e*) — Idem (pentru compușii carbonilici C_5—C_{11})		
2,4-DNFH, ai *n*-alcanalilor și *n*-alcan-2-onelor (omologi ai seriilor de derivați ai 2,3-dicetonelor și α-cetoalcanalilor)	Silicagel impregnat cu ulei mineral 10% în EP	1) Dioxan: H_2O (6 : 4) 2) Dioxan: H_2O (13 : 7)		[9]
2,4-DNFH ai alcanilor, alca-2-enalilor și alca-2,4-dienalilor (compușii izomeri cu același număr de atomi de C se diferențiază după gradul de nesaturare)	Alumină G 30 g+$AgNO_3$ 7,5 g în 50 ml H_2O (I) uscare la aer apoi la 135°C și lăsat peste noapte la temperatura camerei și întuneric	— EP (30—40°C) : Et_2O (21 : 4)		[10]
Separarea derivaților 2,4-DNFH dintr-o serie omologă	Kiselgur impregnat prin imersare, cu sol. de 2-fenoxietanol 10 % în acetonă	EP — (100—120°C)		[10]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Alumină G după evaporarea soluției (I) impregnare cu 2-fenoxietanol 10%, în acetonă	Bidimensional a) EP (30—40°C):Et_2O (96 : 4) (migrare repetată) b) EP (100—120°C)		
2,4-Dinitrofenilhidrazonele compușilor carbonilici (C_2—C_{11}): alca-2,4-dienali, alcanali, alcanone, alca-2-en-4-one	Carbonat bazic de zinc cu amilo-pectină ca liant Kiselgur G impregnat cu $AgNO_3$ Kiselgur G impregnat cu Carbowax 400 sau carbonat de zinc impregnat cu carbowax 400	— EP : C_6H_6:Py (7 : 1 : 2) +0,1% EtOH abs. — EP (60—70°C) — EP (100—120°C), pentru separarea compușilor individuali din fiecare clasă; în funcție de lungimea lanțului		[11]
3-Metil-2-benzotiazolon-hidrazone (MBTH) ale aldehidelor alifatice (azine) (C_1—C_8)	Silicagel G activat 1 oră la 110°C	EP (30—40°C): AcOEt:AcOH (88 : 10 : 2)	MBTH 0,2% hidrocloric în EtOH + $FeCl_3$ 0,2%+HCl 0,5%	[12]
Oximele aldehidelor aromatice (perechi izomere)	Silicagel G	C_6H_6 : AcOEt (5 : 1)	Clorură cuprică 0,5%	[13]
Derivați bisulfitici ai compușilor carbonilici aromatici*)	Silicagel KSK cu gips	C_6H_{14} : EtOH	Soluție saturată de 2,4-DNF în HCl 2 N	[14]

*) Compusul carbonilic se amestecă 1 oră pe baie de apă cu 30—35% $NaHSO_3$. Precipitatul cristalin bisulfitic se filtrează, se spală cu eter și se dizolvă în apă (1 : 10).

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Detectarea aldehidelor și cetonelor ciclice care conțin cel puțin un atom de hidrogen			Sarea de sodiu a acidului 12-molibdosilicic în mediu puternic alcalin	[15]
Izonicotin-hidrazonele compușilor carbonilici aromatici	Silicagel G sau Silicagel F_{254}	C_6H_6 : EtOH : AcOEt (2 : 1 : 1)	1) Sol. I_2 0,5% în $CHCl_3$ 2) $FeCl_3$ 1% 3) $HgCl_2$ 1% 4) Lumină U.V.	[16]
Metaldehidă	Adsorbosil-1	1) $CHCl_3$ 2) Me_2CO : C_6H_6 (1 : 4) 3) AcOEt 4) MeOH : T (1 : 4)	1) Guaiacol 5% în $CHCl_3$ apoi H_2SO_4 90°C	[17]
2,4-DNFH-onele compușilor carbonilici	Silicagel	C_6H_6 : Th : AcOH (45 : 3 : 2)		[18]

Bibliografie

1. *Marcuse, I. R., Mobech-Hansson, U., Goethe, P.* Fette Seifen Anstrichmit., 68, 1964, p. 192.
2. *Hermanek, S., Schwartz, V., Cekan, Z.* Pharmazie, 16, 1961, p. 566.
3. *Kucera, J.* Coll. Czech. Comm., 28, 1963, p. 1341.
4. *Knappe, E., Peteri, D., Rohdewald, I.*, Z. Anal. Chem., 197, 1963, p. 364.
5. *Sherma, J., Goldstein, D. A., Lucek, R. J.* Chromatog., 38, 1968, p. 54.
6. *Meijboom, P. W., Jurriens, G. J.* Chromatog., 18, 1965, p. 424.
7. *Mehlitz, A., Gierschner, K., Minas, T.* Chemiker-Ztg., 87, 1963, p. 573.
8. *Schwartz, D. P., Shamey, J., Brewington, C. R., Parks, O. W.* Microchem. J., 13, 1968, p. 407.
9. *Cobb, W. Y., Libbey, L. M., Day, E. A.* J. Chromatog., 17, 1965, p. 606.
10. *Urbach, G.* J. Chromatog., 12, 1963, p. 196.
11. *Badings, H. T., Wassink, J. G.* Neth. Milk Daivy J., 17, 1963, p. 132; C.A., 60, 1964, p. 26 d.
12. *Bloem, E.* J. Chromatog., 35, 1968, p. 108.

Scanned with OKEN Scanner

13. *Pejkovic, J., Harnisavljenic, M., Nesic, S.* Thin Layer Chromatography, G.B. Marini-Bettolo, Amsterdam, Elsevier, 1964, p. 160.
14. *Kore, S. A., Ivanova, R. C.* Trudâ. Veşestv. Nauk Issled. Inst. Sin. Natur, Dushistnykh. Veşestv., 7, 1965, p. 145; C.A., 66, 1967, p. 4131, 4358b.
15. *Buchler, J. A., Seiling, A. W.* Anal. Chem., 37, 2, 1965, p. 264.
16. *Vasilikiotis, G. S., Canavis, A.* Analyt. Lett., 1, 1968, p. 963.
17. *Mays, D. L., Born, G. S., Christian, J. E.* Bull. envir. Contam. Toxicol., 3, 1968, p. 366.
18. *Shozo Yamada, Tsugio Baba.* Japan, Analyst, 17, 1968, p. 593.

Bibliografie suplimentară

Digkman, G. I. C. Analyst, **92**, 1967, p. 431 (amestecuri complexe de carbonili).
Borsdorf, R., Mietasch, P., Muchlstaedt, M. Z. Chem., **7**, 1967, p. 190, (stereoizomerii α, α'-dihalocicloalcanonelor.).
Sawicki, E., Stanley, T. W., Elbert, W. C., Morgan, M. Talanta, **12**, 1965, p. 605. (compuşi carbonilici policiclici).
Barber, E. D. J. Chromatog., **27**, 1967, p. 398 (carbonili derivaţi, azine).
Bruemmer, J. M., Muller-Penning, T. Y. J. Chromatog., **27**, 1967, p. 290 (2,4-DNFH a 250 compuşi carbonilici).
Hashimi, M. H., Maqbool, Ahmad Shahid Mikrochim. Acta, **5**, 1968, p. 1045 (aldehide α-nesaturate aromatice).

11.4. Fenoli, alchilfenoli, polifenoli, fenoli substituiţi, derivaţi

Compuşii simpli	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de indentificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
p-Alchilfenoli *n*-(C_1—C_{12}) din uleiuri (lubrifianţi)	Poliamidă	H_2O : DMF : FM (6 : 4 : 1) NaOH 1 N : MeOH (7 : 3)	Fast Blue Salt 0,5% în apă (sare stabilă de diazoniu) uşor încălzit (Cantitativ prin spectrometrie în U.V	[1]
Fenoli metilaţi (mono-, di-, tetra-, pentametilaţi)	Celuloză MN 300 HR 15 g+65 ml soluţie: 1) FA 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6% în acetonă;	C_6H_{14}		[2]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	2) MFA 0,5; 1; 2; 3; 4; 5% în acetonă; 3) DMF 0,5; 1; 2; 3; 4% în acetonă			
Derivaţii rezorcinolului	Alumină dezactivată prin migrare cu C_6H_6 : AcOH (95 : 5)	C_6H_6 : MeOH (9 : 1)	Acid sulfanilic diazotat şi Na_2CO_3	[3]
Fenoli şi peroxizi organici	Silicagel (de diferite mărimi ale porilor, recomandat 2—5 mm)	C_6H_6 : AcOH (5 : 1)		[4]
Fenoli+acizi fenolcarboxilici : monofenoli (*a*); polifenoli+acizi fenolcarboxilici (*b*)	Celuloză MN 300 15 g+90 ml H_2O	1) C_7H_{16} : CCl_4 : MeOH (7 : 4 : 3) (pentru *a* şi *b*) 2) AmOH : FOH : H_2O (40 : 40 : 2) (pentru *b*) 3) AcOET : PrOH : NH_4OH 25% (30 : 50 : 20)	1) Acid sulfanilic diazotat : 10 vol. soluţie A+0,2 vol. soluţie B proaspătă+10 vol. soluţie C *Sol. A:* 9 g acid sulfanilic în 90 ml HCl conc. +900 ml H_2O *Sol. B:* $NaNO_2$ 5% în H_2O *Sol. C:* Na_2CO_3 10% în H_2O 2) *p*-Nitroanilină diazotată	[5]
Alchil — indanoli	Celuloză MN 300 15 g+170 ml sol. 0,02 M oleat de etil în Et_2O	EtOH 37,5%	$KMnO_4$	[6]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Indanoli substituiţi	Celuloză Mn-300 HR 15 g+65 ml FA sau DMF (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6 M) în Me_2CO (0,3 mm)	C_6H_{14}	$KMnO_4$ alcalin	[7]
Alchil mono- şi difenoli+acid monofenilcarboxilic	Silicagel G	C_6H_6 : AcOEt (95 : 5)	Acid sulfanilic diazotat în $NaHCO_3$ 2%	[8]
Fenoli şi acizi fenolici	Silicagel G	1) C_6H_6 : dioxan : AcOH (90 : 25 : 4) 2) C_6H_6 : MeOH : AcOH (45 : 8 : 4)	Acid sulfanilic diazotat Alţi reactivi diazotaţi	[9]
Fenoli şi halogenofenoli naturali	Poliamidă — (cu acid formic)	1) C_6H_6 2) $CHCl_3$ 3) AcOET		[10]
Fenoli, hidroxifenoli, chinone	Poliamidă acetilată	MeOH : H_2O : Me_2CO		[11]
Compuşi fenolici şi cumarine, acizi fenolici	Silicagel G Silicagel G 10 g+ +Celuloză MN-300, 10 g+ 80 ml H_2O	— FOH : FOEt : $CHCl_3$ (5 : 4 : 1) — $CHCl_3$: AcOH : H_2O (4 : 1 : 1)		[12]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Fenoli (naturali)	Silicagel G (preferabil) Celuloză Poliamidă	— C_6H_{12} : AcOEt (1 : 1) — MeOH : $CHCl_3$ (3 : 7)		[13]
Fenoli, acizi hidroxibenzoici, hidroxibenzen	Celuloză (Whatman CC 41 sau MN)	1) C_6H_6 : AcOH : H_2O (6 : 7 : 3) 2) KCl 20% în apă : AcOH (100 : 1)	1) Acid sulfanilic diazotat 2) Fast Blue B salt	[14]
Acizi lichenici ai β-orcinolului	Silicagel G	C_6H_6 : dioxan : AcOH (90 : 25 : 4)	1) $K_2Cr_2O_7$ 10% 2) $FeCl_3$ 3) $KMnO_4$ 3,3% în H_2SO_4	[15]
Fenoli: fenol, guiacol, catehol, derivații lor 4-metilați, 4-etilați, 4-propilați, vanilină, aldehidă- 4-acetoguaiacon, aldehidă 4- propioguaiacol, aldehidă protocatehuică, 4-acetocatehol, 4-propiocatehol	Silicagel G Silicagel G cu FA	1) $CHCl_3$: MeOH; (90 : 10) 2) Idem (99 : 1) 3) C_6H_6 : MeOH (95 : 5) 4) C_6H_6 : AcOEt (3 : 7) 5) C_6H_6 : MeOH : AcOH (45 : 8 : 4) 6) C_6H_6 : dioxan : AcOH (90 : 25 : 4) 7) BnOH (saturat cu apă) : AcOH (10 : 1)		[16]
Di- și trihidroxibenzeni: 2-metil-1,4-dihidroxinaftalină vitamină K_3, pirogalol, fluoroglucinol, acid protocatehuic, acid galic	Silicagel G Silicagel G impregnat cu $AgNO_3$	1) $CHCl_3$: AcOH (8 : 2) 2) C_6H_6 : MeOH : AcOH (8 : 1 : 1)	Rodamină B 0,02% în EtOH și apoi lumină U.V. 254 nm)	[17]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Alchil-fenoli (în special fenoli terpenici)+alchil-terpeno-ciclo-hexanone	Alumină neutră (o,3 mm)	1) C_6H_6 : MeOH : (9 : 1) (pentru alchil-fenoli) 2) C_6H_6 : EP (1 : 3) (pentru alchil-ciclo-hexanone)	Vapori de iod	[18]
Fenoli, polifenoli, amino-fenoli bromfenoli	Silicagel G Poliamidă MN Celuloză MN-300 GF_{254}	1) C_6H_6 : MeOH : AcOH (70 : 8 : 4) 2) Idem (80 : 1 : 1) (migrare repetată) 3) C_6H_6 : BnOH : H_2O (9 : 1 : 10)		[19]
Mono- și difenoli	Alumină G	1) C_6H_6 : MeOH (9 : 1) 2) Idem (8 : 2) 3) $CHCl_3$: AcOET (3 : 1)	Vapori de iod	[20]
Fenoli, crezoli, xilenoli	Silicagel G	$C_6H_{12}(C_6H_{12})$: $CHCl_3$: DEA (5 : 4 : 1)	1) Acid sulfanilic diazotat 0,15 g în 50 ml HCl 8% se amestecă cu 3 ml $NaNO_2$ 5%; 2) AFM 20% în EtOH; 3) $K_3[(Fe(CN_6)]$ 1% în EtOH 50%; $FeCl_3$ 5% în EtOH (1 : 1)	[21]

1	2	3	4	5
Alchilfenoli (mono-, di-, trialchili izomeri) ai fenolului cu izooctenă	Silicagel G	1) C_6H_{14} (C_6H_{12}) : $CHCl_3$: DEA (5 : 4 : 1) 2) T : MeOH : DEA (100 : 1 : 1)	1) Sol. $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în EtOH 50% : $FeCl_3$ 5% în EtOH (2 : 1) 2) Acid sulfanilic diazotat	[22]
Alchilfenoli (mono-, di-, trialchili izomeri ai fenolului cu butene)	Silicagel G	1) C_6H_{12} 2) C_6H_{12} : $CHCl_3$: DEA (5 : 4 : 1) 3) Idem (1 : 4 : 0,1) (pentru separarea 2,4-SBF de 2,6-SBF) 4) $CHCl_3$: MeOH (96 : 4) (pentru separarea fenolului de *o* — SBF și *p* — SBF)	1) Stropire cu DEA pentru faza mobilă 1) și 4), apoi cu acid sulfanilic diazotat 2) $K_3[Fe(CN)_6]$: $FeCl_3$	[23]
Alchilfenoli (mono-, dialchili -izomeri ai *m*-crezolului cu olefine)	Silicagel G	1) T : MeOH : DEA (105 : 0,3 : 1) 2) C_6H_{12} : $CHCl_3$: DEA (1 : 4 : 0,1)	1) AFM 2) Acid sulfanilic diazotat	[24]
Alchilfenoli (mono-, di-, trialchil) izomeri ai amestecului de fenol și crezoli cu olefine (fracția C_4)	Silicagel G	1) C_6H_{12} : $CHCl_3$: DEA (5 : 4 : 1) 2) T : MeOH : DEA (105 : 0,3 : 1);	Idem [21]	[25]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		3) Idem (100 : 1 : 0,5) 4) C_6H_{12} : $CHCl_3$: DEA (1 : 4 : 0,1); 5) Idem (2 : 1 : 0,1)		[25]
α-, β-Naftoli	Silicagel G	1) T 2) T : MEOH : DEA (90 : 5 : 5) 3) $CHCl_3$: DEA (5 : 2) 4) T : DEA (9 : 1) 5) C_6H_6 : Me_2CO (10 : 1)	1) Stropire în cazul 1) cu DEA apoi în toate cazurile stropire cu acid sulfanilic diazotat 2) AFM	[26]
α-, β-Naftol în prezență de α, β-naftilamine	Silicagel G	1) EP (40—60°C) : AcOH (85 : 15) 2) C_6H_6 : AcOH (9 : 1)	$K_3[Fe(CN_6)]$: $FeCl_3$	[27]
Monobutilfenoli : fenol, *p*-SBF, *p-tert*-BF *o*-SBF, *o-terț*-BF	Silicagel G	C_6H_6	2 NH_4NO_3· $Ce(NO_3)$	[28]
Fenoli halogenați+nitrofenoli	Silicagel G 28,5 g+50 ml H_2O se adaugă la : 1,5 g aminopectină+ 15 ml H_2O_2 30 min la aer apoi 2 ore la	1) C_6H_6 : EtOH (95 : 5) 2) C_6H_{14} : EtOH (95 : 5) 3) Et_2O : C_6H_{14} (1 : 1)	1) Morină 0,06% în MeOH (lumină U.V. 254 nm) 2) Vapori Br_2 3 s sau Cl_2 10 s; excesul se îndepărtează cu aer cald, (2 min	[29]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	110°C și 3 zile depozitare		pentru Br_2 și 5 min pentru Cl_2) apoi stropire cu soluție apoasă 2% KI	
Nitro-, nitrozofenoli	Silicagel G Celuloză Celuloză acetilată Alumină	1) $CHCl_3$ 2) C_6H_6 3) $CHCl_3$: xilen (4 : 1) 4) Idem (1 : 1) 5) BnOH saturat cu NH_4OH 5 N 6) BnOH : $(NH_4)_2CO_3$ 3 N : NH_4OH 3 N (4 : 3 : 3) 7) BnOH : EtOH : $(NH_4)_2CO_3$ 3N (40 : 11 : 19) 8) NaCl 3% 9) BnOH : H_2O (86 : 14) 10) BnOH saturat cu H_2O 11) EtOH : H_2O (2 : 3) 12) BnOH : H_2O : AcOH (6 : 2 :1) 13) Me_2CO : H_2O (2 : 3) 14) C_6H_{12} : AcOEt : AcOH (5 : 1 : 1)		[30]
Nitrofenoli	Silicagel G+ H_3BO_3 0,1 N	1) T : MeOH (100 : 20)	NaOH 10 % (eventual la	[31]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		(pentru mononitrofenoli) 2) $CHCl_3$ (pentru dinitrofenoli în prezența mononitrofenolilor) 3) $CHCl_3$: MeOH (100 : 10) (pentru trinitrofenoli în prezența mono- și dinitrofenolilor)	cald, — necesar pentru punerea în evidență a mononitrofenolilor sau intensificarea colorației dișitrinitrofenolilor)	
Fenoli, hidroxifenoli, amino — fenoli : fenol, *p*-hidroxifenol, *m*-hidroxifenol, 2,4-xilenol, guiacol, 5-metilrezorcinol, acid β-rezorcinic, acid gentisic, acid salicilic, acid 2-hidroxi-*p*-anisic, pinefrin izoproterenol, norepinefrin, 3,4-dihiroxifenilalanină (DOFA), catehol, acid 3,4-dihidroxifenibenzoic, pirogalol, acid tanic	Celuloză microcristalină fără liant Celuloză microcristalină	— C_6H_6 : MeOH : AcOH (45 : 8 : 4) — 2-sec-PrOH : HCl 0,1 N (5 : 1)	1) Soluție apoasă de p-NBDF + $FeCl_3$ 2% în BnOH apoi stropit cu HCl 0,1 N; 2) Reactiv Doty (preparat zilnic): 1 vol. sol. B + 10 vol. sol. C + 37,5 g glicerină + 17 ml amoniac conc. + 180 ml H_2O; se amestecă și se diluează la 500 ml cu H_2O *Sol. A:* 1,5 g sulfat feros în 200 ml H_2O + 1 ml HCl N + 1 g bisulfit de sodiu în 10 ml *Sol. B:* se dizolvă 500 mg	[32]

1	2	3	4	5
			citrat de sodiu în 10 ml soluție A. *Sol. C:* 1 vol. sol B+10 vol. soluție tampon (42 g $NaHCO_3$ +50 g $KHCO_3$ în 180 ml H_2O Peste reactivul Doty se poate face stropirea cu p-NBDF	
Fenoli policiclici	Silicagel Analtech Silicagel Analtech saturat cu $NaCH_3COO$ 0,3 M Poliamidă	— TEA — T : FOEt : FOH (5 : 4 : 1) — H_2O : EtOH : 2-butanonă : acetilacetonă (65 : 15 : 15 : 5)	1) p-Nitrobenzendiazoniu fluoroborat 2) o-Ftalaldehidă 1% în H_2SO_4 3) Benzidină tetraazotat 4) Acid sulfanilic diazotat	[33]
Dinitrofenoli substituiți (serii omologe)	Celuloză MN 300 20 g +oleat de etil 2 ml în 98 ml Et_2O uscat, uscare 15 min Silicagel G	— EtOH 40% saturat cu oleat de etil — EP (40—60°C): Et_2O : FOH (90 : 10 : 2)	1) Lumină U.V. 254 nm 2) KOH 2% în EtOH	[34]
Reactivi de detectare a fenolilor (pentru 102 fenoli): o-Aminofenol; $AgNO_3$ amoniacal; $Ce(NO_3)_4$; coniferaldehidă; $FeCl_3$ în eter etilic; $FeCl_3$ în H_2O; fructoză; sulfat de hidrazină; $Hg_2(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$; reactiv Millon; *p*-NBDF; $H_3PMo_{12}O_{40} \cdot H_2O$; $H_3PW_{12}O_{40} \cdot 14H_2O$; anhidridă ftalică; $K_2Cr_2O_7$; $KMnO_4$; chinonclorimidă; $NaHCO_3$; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; $NaIO_4$; sare de tetrazoliu; NaOH; NaCN. Pentru alchilfenoli, difenoli+halogenofenoli; fenolipolihidrici și aminofenoli; nitrofenoli.				[35]

Bibliografie

1. *Diamond, P. F.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 419.
2. *Graham, R. J. T., Bark, L. S., Daly, J. J.* Chromatog., **33**, 1968, p. 107.
3. *Karpov, O. N., Gaidai, N. S., Tokarchuk, A. G.* Zav. Lab., **35**, 1969, p. 286.
4. *Schulz, M., Saeboth, M., Wieker, W.* Z. Chem., 1962, p. 2279.
5. *Dittman, J. J.* Chromatog., **32**, 1968, p. 764.
6. *Graham, R. J. T.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 125.
7. *Graham, R. J. T., Bally, M.* J. Chromatog., **37**, 1968, p. 538.
8. *Murthy, B. G. K., Sina Samban, M. A., Aggarwas, J. S.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 519.
9. *Pastuska, G.* Z. Analit. Chem., **179**, 1961, p. 355.
10. *Wang, K. T., Lin, Y. T.* J. Chinese Chem. Soc. (Taiwan), 8, 1961, p. 241.
11. *Crau, W., Endres, H.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 585.
12. *Van Sumere, C.F., Wolf, J., Teneky, H., Kint, J.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 48.
13. *Gant, W. F., Whetter, J. M.* J. Chromatog., **21**, 1966, p. 247.
14. *Scheline, R. R.* J. Pharm., Pharmacol., **18**, 1966, p. 665.
15. *Ramant, J. L.* Bull. Soc. Chim., Belge, **72**, 1963, p. 316.
16. *Halmekoski, J., Hamikeinen, H.* Suomen Kemistilehtz, **1336**, 1963, p. 24; C.A., **59**, 1963, p. 8 d.
17. *Ally, O. M.* Z. Anal. Chem., **234**, 1968, p. 254.
18. *Kheifits, L. A., Moldovanskaya, G. I., Shulov, K. M.* Zh. Anal. Khim., **18**, 1963, p. 267; C.A., **58**, 1963, p. 13107 c.
19. *Joschek, H. I., Miller, S. J.* J. Am. Chem. Soc., **88**, 1966, p. 3276.
20. *Klesment, I. H., Lageda, E., Eisen-Eesti, N.S.V.* Toeduste Akad. Toimetised, Funsikalis, Mat. Technikateoduste, Seria **14**, 1965, p. 266; C.A., **64**, 1966, p. 1383 a.
21. *Johan, F., Zaharia, M.* Metodă C.S.S. de determinare a fenolului, crezolilor și xilenolilor (lucrare nepublicată).
22. *Johan, F., Onaca, I.* Metodă C.S.S. de studiere a produselor de alchilare a fenolului cu izooctenă (lucrare nepublicată).
23. *Zaharia, M., Johan, F.* Metodă C.S.S. de studiere a produșilor de alchilare ai fenolului cu butene (lucrare nepublicată).
24. *Johan, F., Onaca, I., Zaharia, M.* Metodă C.S.S. de studiere a produselor de alchilare a *m*-crezolului cu olefine (lucrare nepublicată).
25. *Vîtcă, V., Zaharia, M., Johan, F.* Rev. de Chimie, **17**, 1966, p. 425; C.A., **66**, 1967, 10316 n.
26. *Johan, F.* Metodă de analiză C.S.S. a α- și β-naftolului (lucrare nepublicată).
27. *Johan, F., Onaca, I.* Metodă de analiză C.S.S. a naftolilor în prezență naftil aminelor (lucrare nepublicată).
28. *Besan, J.* Magy. Kem. Foly., **74**, 1968, p. 569.

Scanned with OKEN Scanner

29. *Toderma, G., Batelaam, P. H. J.* Chromatog., **36**, 1968, p. 205.
30. *Parihar, D. B., Sherman, S. P., Tewari, K. C. J.* Chromatog., **24**, 1966, p. 230.
31. *Johan, F., Zaharia, M., Bratu, E.* Comunicări ICECHIM, **IV**, 1963, p. 216.
32. *Chafetz, L., Kay, A. I., Schriftman, H. J.* Chromatog., **35**, 1968, p. 567.
33. *Sawicki, E., Guyer, M., Schumacher, R., Elbert, W. C., Engel, C. R.* Mikrochim. Acta, 1968, p. 1027.
34. *Cliford, D. R., Fieldgate, D. M., Watkins, D. A. M. J.* Chromatog., **43**, 1969, p. 110.
35. *Smith, B.* Trans. Chalmers Univ. Technol. Gothebburg, **263**, 1963, p. 51; C.A., **59**, 10 b.

Bibliografie suplimentară

Aly, O. M. Water Res., **2**, 1968, p. 587 (fenoli din ape).

Maximov, O. B., Pantiukhina, L. S. J. Chromatog., **20**, 1965, p. 160 (acizi hidroxibenzen-carboxilici și acizi benzencarboxilici).

Crabtree, A. N., McGill, A. E. Y. Microchim. Acta, **9**, 1967, p. 85 (compuși fenolici).

Vasques, A. T., Montes, A. L. Anales Asoc. Chem. Arg., **51**, 1963, p. 231: (compuși fenolici din uleiuri esențiale).

Bark, L. S., Graham, R. J. T. J. Chromatog., **27**, 1967, p. 109 (alchilfenoli 2-substituiți).

Husaen, S. J. Chromatog., **18**, 1965, p. 419 (xilenoliclorurați).

Hedix, P. A., Minyard, J. P., Thompson, A. C. J. Chromatog., **30**, 1967, p. 45 (acizi fenolici+derivați).

Renault, J., Cartron, M. F. Ann. Pharm. Franc., **25**, 1967, p. 291; (fenoli, crezoli, xilenoli).

Roseira, A. N., Guedes, L. C. J. Chromatog., **23**, 1966, p. 483 (compuși fenolici din fracțiuni carbonifere-produși de cuplare cu Echtvioletsalz).

Simonyi, I., Buda, L. Acta Pharm. Hung., **37**, 1967, p. 14; C.A., **66**, 1967, 68989 x. (2,4,6-triiodofenoli).

Bark, L. S., Graham, R. J. T. Chromatographie, Electrophorèse, Symposium **IV**, Bruxelles, 1968, p. 168 (nitrofenoli, și nitrofenilcarbonați).

Bark, S. L., Graham, R. J. T. J. Chromatog., **27**, 1967, p. 116 (alchil-, aril-, alcoxi-fenoli).

Zigler, M. G., Phillips, W. F. Environ Sci. Technol., **1**, 1967, p. 656; C.A., 1967, p. 58753 b. — (Clorofenoli).

Bark, L. S., Daly, J., Graham, R. J. T. Chromatographie, Electrophorèse, Symposium IV, Bruxelles (fenoli metilați).

Ludwig, Sr. F. Y. Anal. Chem. **40**, 1968, p. 1620 (aducți ai alchilfenolilor).

Scanned with OKEN Scanner

11.5. Mono-, oligo-, polizaharide, dextrine, aminozaharuri

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Zaharuri (din lichide biologice): lactoză, maltoză, galactoză, levuloză, riboză, ramnoză, sucroză, rafinoză, fucoză, xiloză, gliceraldehidă, melibioză, furanoză, manoheptuloză, glucoză, lixoză, manoză, dihidroxiacetonă	Silicagel G. Fluka cu H_3BO_3 0,03 M, 1 oră la 110°C;	— Bidimensional a) BnOH : AcOET : *i*-PrOH : AcOH : H_2O (35 : 100 : 60 : 35 : 30) b) BnOH : AcOEt : *i*-PrOH : H_2O (35 : 100 : 60 : 30)	Uscare la 110°C, apoi cu soluție de naftoresorcinol 20 mg + 10 ml EtOH + 0,2 ml H_2SO_4 conc. (soluție proaspătă)	[1—3]
	Silicagel G cu $NaCH_3COO$ 0,2 M	— Me_2CO : H_2O : $CHCl_3$: MeOH (8 : 0,3 : 1 : : 1) și alte 42 de faze mobile		
	Silicagel G cu fosfat disodic 0,2 M 24 ore la aer apoi 1 oră la 110°C			
Monozaharide (din complecși de polizaharide-peptide)	Silicagel G	C_6H_6 : *i*-PrOH : H_2O (45 : 50 : 5)	1) După uscare la 50°—100°C cu soluție de naftoresorcinol-H_2SO_4; 2) Anisaldehidă-H_2SO_4; 10% în MeOH	[4]
Monozaharide	Celuloză MN-300	FOH : MEC : *terț* BnOH : H_2O (3 : 6 : 8 : 3)		[5]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Zaharuri: D-glucoză, D-fructoză, D-xiloză, D-galactoză, lactoză, L-arabinoză, L-ramnoză, L-sorboză,, D-manoză, sucroză, D-siloză, D-arabinoză, maltoză, rafinoză, trehaloză	Silicat de magneziu (Woelm) uscat la aer	1) PrOH : H_2O (5 : 2); 2) PrOH : H_2O : $PrNH_2$ (5 : 3 : 2) adaosul de $PrNH_2$ face să descrească Rf-ul pentru cetoze să să crească pentru aldoze (în atmosferă nesaturată); 3) PrOH : H_2O : $CHCl_3$ (6 : 2 : 1); 4) PrOH : H_2O : MEC (2 : 1 : 1) (în atmosferă nesaturată)	Uscare 2 ore la aer apoi 1 oră la 130°C (pentru îndepărtarea aminei) apoi identificarea uzuală	[6]
Di-, tri-, și tetrazaharide	Silicagel G 30 g+H_3BO_3 0,02 M 60 ml, 1 oră 100°C	1) MEC : AcOH: MeOH (6 : 2 : 2) migrare repetată 2) Me_2CO : H_2O (9 : 1) (și bidimensional cu aceleași faze mobile)	4 ml anilină +20 ml H_3PO_4 (80%) în 200 ml Me_2CO, 10 min la 100°C	[7]
Zaharuri și derivații lor	Celuloză microcristalină Avirin	Py:AcOEt: AcOH : H_2O (5 : 5 : 1 : 3)		[8]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Celooligozaharide, celobioză, celotrioză, celotetraoză, celopentaoză, celohexaoză	— Silicagel G — Kieselgur G (plăci 20×60 cm)	— *i*-PrOH : H_2O : AcOET : (1 : 2 : 1) — PrOH : AcOEt H_2O(6:1:3)	1) $KMnO_4$ 0,5% în NaOH 1 N 2 min la 100°C 2) Ftalat de anilină 20 min la 115°C	[9]
Zaharuri	Silicagel DO 40 g+ $CaSO_4$ 5 g+ $NaCH_3COO$ 0,02 M 95 ml (0,5 mm) uscat la aer peste noapte	$CHCl_3$: AcOH : H_2O (3:3,5:0,5) (migrare repetată)	DFA 1 g + anilină 1 g în 100 ml Me_2CO : H_3PO_4 85% (10 : 1)	[10]
Zaharuri din cacao: sucroză, glucoză (majoritar), fructoză, cetoză, 2-aldopentoze, trizaharide, melibioză, rafinoză, stachioză	Silicagel G+H_3BO_3 0,1 M (50 ml), 2 ore la temperatura camerei	Bidimensional a) BnOH : Py : H_2O (6 : 4 : 3) sau PrOH : AcOEt: H_2O (7 : 1 : 3), uscare 1 oră la aer apoi cu b) Me_2CO : FOH : EtOH (3 : 1 : 1) sau AcOEt : AcOH : H_2O (6 : 3 : 2)	1) Anilină 4% în EtOH : DFA 4% în EtOH : H_3PO_4 (5 : 5 : 1) (zilnic preparat); 2) Anilină 4% în EtOH : DFA 4% în EtOH : H_3PO_4: uree (5 g în 80 ml EtOH) : 20 ml HCl 2% (5 : 5 : 1 : 2), 10 min la 110°C	[11]
Polizaharide și acizi uronici: rafinoză, lactoză, trehaloză, maltoză, zaharoză, acid gluconic, acid galacturonic, acid glucuronic, acid manuronic	Celuloză	1) AcOEt : Py : H_2O (2 : 1 : 2) 2) *i*-PrOH : Py : AcOH : H_2O (8 : 8 : 1 : 4) (pentru acizi uronici)	1) Ftalat de anizidină 20—30 min, la 50°C; 2) Naftorezorcină în acid tricloracetic 2%, 30 min la 105°C	[12]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Zaharuri: L-arabinoză, D-lixoză, D-riboză, D-xiloză, L-xiluloză, D-galactoză, D-glucoză, D-matioză, D-fructoză, L-sorboză, L-fructoză	Silicagel G + H_3BO_3 0,1 N, uscare la aer 50—60 min	C_6H_6 : MeOH : AcOH (2 : 2 : 6)	Uscare la 70°C și pulverizare cu: 2,5 g sulfat de aminoamină monohidrat în 100 ml H_2O apoi imediat cu 1 ml soluție 1% $K_2Cr_2O_7$ în apă, în amestec cu 100 ml H_2SO_4 conc., 10 min la 110°C (soluție stabilă o lună de zile la temperatura camerei)	[13]
Dextrine, α-, β-ciclodextrine	Silicagel G	BnOH : H_2O : Py : DMF (6:3:1:2:4) apoi după uscare în BnOH : AcOH : H_2O (6 : 3 : 1)	$K_2Cr_2O_7$: H_2SO_4	[14]
Dextrine de zaharuri	Silicagel G Kieselgur G	— EtOH : Me_2CO : H_2O (50 : 40 : 9) — AcOEt : *i*-PrOH : H_2O (65 : 23,5 : 11,5)	1) TFTC (pentru cei cu masă moleculară mică); 2) Fosfat de anilină; 3) *m*-Fenilendiamină hidroclorică; 4) Anilină: DFA : H_3PO_4 (pentru cei cu masă moleculară medie); 5) Vapori de I_2 (pentru cei cu masă moleculară mare)	[15]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Maltooligo- şi megalozaharide (compuşii cu grade de polimerizare 6—28, separă în funcţie de conţinutul crescînd de apă, iar cei cu grad de polimerizare 20—35 prin cromatografie continuă	Silicagel G: Kieselgur G 3 : 1 (0,4 mm) 3 ore la 35°C	1) PrOH : EtOH : H_2O (27 : 58 : 15) sau (21 : 59 : 20) sau (18 : 57 : 25) sau (16 : 54 : 30) sau (15 : 50 : 35) sau (17 : 43 : 40), repetat de două-trei ori 2) PrOH : nitrometan : H_2O; (5 : 2 : 3), repetat de 4 ori	H_2SO_4 30 min la 140°C	[16]
2-Desoxizaharuri	Silicagel tamponat cu $NaCH_3COO$	AcOEt : 2-PrOH : H_2O (65 : 23 : 12)		[17]
Aminozaharuri (*a*) şi N-acetilaţii zaharurilor corespunzătoare (*b*)	Celuloză microcristalină	Py : AcOEt : AcOH : H_2O (5 : 5 : 1 : 3)	1) Ninhidrină (pentru *a*); 2) $AgNO_3$ în NaOH apoi soluţie diluată de tiosulfat de sodiu (pentru *b*)	[18]
Fructozani: fructoză, glucoză, sucroză, fructozani	Celuloză MN-300 22 g + $+K_2HPO_4$ 33 mM, 145 ml, 24 ore la aer	1) *i*-PrOH : AcOEt : H_2O (75 : 10 : 15); 2) Idem (60 : 10 : 30) migrare repetată	Naftorezorcinol	[19]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Zaharuri: maltoză, D-glucoză, metil-α D-glucopiranozidă	Silicagel G 24 ore la aer	Butanonă: azeotrop H_2O-EtOH (23 : 2) migrare repetată	30 min uscare apoi cu: 1) H_2SO_4 3,3% în EtOH 33% 30 min la 150°C 2) $(NH_4)_2SO_4$ 20% — H_2SO_4 4% 1 oră la 210°C 3) H_2SO_4 50% 30 min la 260°C 4) Clorură de sulfuril 15 min apoi 15 min în vapori de H_2O și 30 min la 150°C	[20]
Diacetonsorboza	Alumină: gips (32 : 3), uscat la aer	$CHCl_3$: MeOH (19 : 2)	H_2SO_4 la 80—100°C, 5 min	[21]
Maltooligozaharide (soluții în 90% DMSO 0,5—20 mg)	Kieselgur G uscat la aer	1) BnOH : Py : H_2O (6 : 4 : 3) 2) Idem (5 : 4 : 2) 3) Idem (3 : 4 : 3) migrare repetată	1) Expunere vapori de I_2; 2) 18 ml EtOH 95%+1 ml H_2SO_4+1 ml anisaldehidă, 25 min la 100°C	[22]
Zaharuri, antocianine și antocianidine	Silicagel G 30 g+acetat bazic de Pb (70 ml soluție 4%, 1 oră la aer și 30 min la 105°C	1) BnOH : Me_2CO : H_2O : C_6H_6 : NH_4OH (20 : 85 : 15 : 5 : 0,3); 2) BnOH : MeOH : Me_2CO :	1) Naftoresorcină 0,2% în EtOH 22 ml+ +H_3PO_4 85%, 1 ml, 5 min la 105°C 2) Lumină U.V. 350 nm pentru anto-	[23]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		H_2O : NH_4OH (70 : 20 : 100 : 20 : 93); 3) BnOH : Me_2CO : $CHCl_3$: H_2O (60 : 25 : 5 : 10)	cianine și antocianidine	
Sorboza în prezența unor monozaharide uzuale	Silicagel G 30 g+70 g tampon fosfat 1/15 M pH 7, 1 oră la 100°C	Me_2CO : AcOEt : AcOH : H_2O (50 : 50 : 25 : 5), migrare repetată	Uscare la 100°C și apoi cu α-naftol	[24]

Bibliografie

1. *Lato, M., Brunelli, B., Ciuffini, G., Mezzetti, T.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 407.
2. *Lato, M., Brunelli, B., Ciuffini, G.* J. Chromatog., **34**, 1968, p. 26.
3. *Lato, M., Brunelli, B., Ciuffini, G.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 19.
4. *Yoshinori Nozawa, Hiroshi Ueska, Hideaki Suzuki, Yuki Ito.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 528.
5. *Vanihof, D. W., Tucker, T. C.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 300.
6. *Grasshof, H.* Deut. Apotheker Ztg., **103**, 1963, p. 1396.
7. *Geffrey, D. J., Arditti, J., Ernst, R.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 475.
8. *Wolfrom, M. L., Patin, D. L., de Lederkremer, R. M.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 488.
9. *Streikh, Saif-ur-Rahman, Krishnamurti, C.R., Kitts, W.O.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 400.
10. *De Stefanis, V. A., Ponte, J. G.*, Jr. J. Chromatog., **34**, 1968, p. 116.
11. *Posupathy, C. V., Wizesekera, R.D.B.* J. Chromatog., **35**, 1968, p. 117.
12. *Günther, H., Schweiger, A.* J. Chromatog., **34**, 1968, p. 438.
13. *Martinis, P. M., Dick, Y. E.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 188.
14. *Wiedenhof, N.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 100.
15. *Diemar, W., Koelbel, R.* Z. Lebenem. Unters. Forsch., **124**, 1964, p. 157.
16. *Nash, C., Scobell, H. D., Han-Tai, Fisher, E. E.* Anal. Chem., **40**, 1968, p. 207.
17. *Wiedemann, G., Fischer, W.* Z. Physiol. Chem., **336**, 1964, p. 189.
18. *Wolfrom, M. L., Patin, D. L., de Lederkremer, R. M.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 488.

Scanned with OKEN Scanner

19. *Karlsson, G.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 413.
20. *Lehrfeld, J., Goodwin, J. C.* J. Chromatog., **45**, 1969, p. 150.
21. *Tikhomirova, K. P., Kalitvyanskaya, V. I.* Ukr. Khim. Zh., **34**, 1968, p. 1203.
22. *Shannon, J. C., Greech, R. G.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 307.
23. *Pifferi, P. G.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 530.
24. *Igloy, M., Mizsei, A.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 207.

Bibliografie suplimentară

Bischel, M. D., Austin, J. H., Kemenz, M. O., Hubble, C. M., Lear, R. K. J. Chromatog., **21**, 1968, p. 40 (polizaharide).
Weinstein, A. N., Segal, S. Anal. Biochem., **20**, 1967, p. 558 (hexitoli, hexoze corespunzătoare).
Metras, C. Ca. J. Med. Technol., **29**, 1967, p. 121. (zaharuri din urină).
Van Ling, G., Ruijkrman, C., Vlugter, J. C. Carhabid. Res., **4**, 1967, p. 380 (hidrogenare catalitică a zaharidelor).
Berger, P. D., Borodkin, S. E. Int. Sugar J., **69**. 1967, p. 31. (zaharuri din zahăr rafinat).
Marais, J. P. J. Chromatog., **27**, 1967, p. 321 (zaharuri).
Lombard, A. J. Chromatog., **26**, 1967, p. 283 (zaharuri din hidrolizate acide).
Krzeczkowska, I. S., Burzynski, S., Czerniak, Z. Chemia Analit., **13**, 1968, p. 122 i (zaharuri).
Moczar, E., Moczar, M. Bull. Soc. Chim. Biol., **49**, 1967, p. 1159 (structura fracţiunii glucidice a glicoproteinelor).
Gal, A. E. Anal. Biochem., **24**, 1968, p. 452 (monozaharide din substanţe biologice).
Viejo, J. P. — Chim. analyt., **51**, 1969, p. 18. (interacţiunea *Rf* fructoză şi hidrofilitatea fazei mobile).

11.6. Acizi alifatici saturaţi şi nesaturaţi, mono- şi dicarboxilici, acizi aromatici mono- şi policarboxilici şi alţi acizi organici

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Acizi monocarboxilici alifatici C_2-C_{10}	Silicagel G (cu EtOH)	MEC : EtOH : NH_4OH 25% (65 : 15 : 28)	Uscare la cald apoi stropire cu roşu de metil 0,1% în EtOH	[1]

1	2	3	4	5
Acizi alifatici monocarboxilici (în prezența trigliceridelor) C_{10}-C_{20}	Kieselgur impregnat cu U 10% în EP	AN : AcOH (1 : 1)	45 min la 120°C apoi impregnat cu DCDMS și stropire cu acetat de cupru (20 ml sol. sat. în 100 ml H_2O), apoi spălare și stropire cu acid hidrorubeanic 0,1% în apă și spălare	[2]
Acizi alifatici monocarboxilici saturați (*a*) și esterii metilici (*b*)	Silicagel G Silicagel G impregnat cu 5% US (Dow Corning silicone fluid 260)	— Et_2O 5% în EP (pentru *a*) — AcOH : AN : H_2O (10 : 70 : 20) (pentru a+b) — Et_2O 2% în EP (pentru *b*)		[3]
Acizi alifatici saturați C_6-C_{18} (*a*), acizi alifatici saturați C_6-C_{18} (ca acizi hidroxamici*) și esteri metilici**) (*b*); esteri metilici ai acizilor alifatici saturați C_{10}-C_{18} (*c*); esteri metilici ai acizilor alifatici nesatu-	Silicagel SHF_{254} silanizat 30 g+ +60 ml H_2O : MeOH, (2 : 1)+5 g silicagel SHF_{252} uscat la aer, apoi 30 min la 150°C.	1) Dioxan: H_2O : FOH (60 : 35 : 5) (pentru *a*) 2) MeOH : dioxan : $CHCl_3$: tampon *p*H=3) (glicocol) (4 : 3 : 1 : 4) atmosferă nesaturată) (pentru *b*);	1) AFM 20% în EtOH 50% 30 min la 150°C (pentru *a*); 2) 7 ml $FeCl_3$ 10%+3 ml HCl 25%+ +45 ml MeOH+ +45 ml Et_2O (pentru *b*);	[4]

* Prepararea derivaților hidroxamici: 10 ml soluție esteri metilici + 5 ml soluție NH_2OH (1 p. $HCl \cdot NH_2OH$ 5% în MeOH+1 p. NaOH 12,5% în MeOH).

** Prepararea esterilor metilici (din grăsimi): extractul esteric este evaporat și adus la 10 ml, se adaugă 2 ml MeOH + soluție eterică de diazometan.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
rați ca aducți mercurici***) (*d*).		3) Me_2CO : MeOH : H_2O : AcOH (70 : 50 : 35 : 1) (atmosferă nesaturată) (pentru *c*); 4) EP : Et_2O (4 : 1) (pentru îndepărtarea în front a acizilor saturați apoi migrare în 5) PrOH : AcOH (100 : 1) (pentru *d*)	3) Expunere la vapori de amoniac (pentru *c*); 4) DFC 1% în EtOH pentru *d*)	
Acizi alifatici monocarboxilici saturați și nesaturați (esteri metilici perechi critice)	Kieselgur uscat la 100°C apoi impregnat cu: 1) 10% UP; 2) US (MS 200) în EP (60—80°C) evaporarea dizolvantului în 1/2—24 ore la aer	NO_2CH_3 : AN : AcOH (75 : 10 : 10)	1) Soluție saturată de $FeCl_3$ apoi imediat stropire cu soluție apoasă 0,1 M de molibdat de sodiu; 5 min la 140°C; 2) soluție de iod (pentru acizi nesaturați)	[5]

*** Prepararea aducților de mercur din esteri metilici: soluție metanolică de esteri metilici +40—80 ml $Hg(CH_3COO)_2$ (14 g acetat se dizolvă în 250 ml MeOH+1 ml AcOH+2,5 ml H_2O). Amestecul se lasă 24 ore la întuneric.

Prepararea aducților: 14 g $Hg(CH_3COO)_2$ se dizolvă în 250 ml MeOH+2,5 ml MeOH+1 ml AcOH; 25 ml din soluția rezultată se adaugă la 1 g ester metilic și se lasă să reacționeze 24 ore la întuneric la temperatura camerei într-un flacon cu dop rodat. Se evaporă apoi MeOH la vid la 30°C într-un curent de azot. Produsul uscat se dizolvă în 50 ml $CHCl_3$. Se spală cu apă de 5 ori cu cîte 25 ml și se usucă pe Na_2SO_4. Se aplică în soluție cloroformică.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Acizi alifatici monocarboxilici saturați și nesaturați C_8C_{26}	Kieselgur G activat și impregnat cu 15% DD în EP; uscare la aer 15 min	AN : AcOH (1 : 1) saturat cu DD	1) H_2O; 2) Rodamină B apoasă; 3) 2,6-DCF și expunere la vapori Br_2+ +lumină U.V. 360 nm (pentru acizi nesaturați); 4) $KMnO_4$ alcalin (pentru acizi nesaturați+hidroxiacizi); 5) DFA 0,5%+$ZnCl_2$ 0,5 g în EtOH, 30 min la 100°C și expunere la lumină U.V. Se diferențiază acizii nesaturați de cei saturați	[6]
Acizi alifatici monocarboxilici saturați și nesaturați (separate de perechi critice): lauric-linolenic, palmitic-oleic, erucic, arahinic	Gips sau Kieselgur impregnat cu U	Bidimensional. a) AcOH : AN (3 : 2); b) AcOH : AN (3 : 7) conținînd 0,5% brom (acizii nesaturați se bromurează în timpul separării)		[7]
Acizi alifatici nesaturați izomeri geometrici ai acizilor linoleic (*a*) și linolenic (*b*), (ca esteri metilici)	Silicagel G 50 g+soluție: $AgNO_3$-NH_4OH (12 g $AgNO_3$+ 50 ml H_2O)+ NH_4OH— 28—30%,	1) C_6H_6 : EP (fracțiunea 40—70°C) (30 : 70) (pentru *a*); 2) Idem (40 : 60) (pentru *b*)	2,7 DCF în EtOH abs. și expunere la lumină U.V. 250 nm	[8]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	pînă la dizolvarea precipitatului (9 ml). Soluția se diluează la 100 ml cu H_2O; uscare 2 ore la aer apoi 1 oră la 110°C (pentru *b* 8 g $AgNO_3$)			
Izomeri *cis-trans* ai unor acizi alifatici monocarboxilici nesaturați	Talc 40 g+*n*- sau *i*-PrOH (60 ml)	35 ml EtOH abs.+1 picătură AcOH glacial, se diluează la 50 ml cu H_2O bidistilată, temperatura 15—18°C	1) Expunere vapori I_2; 2) H_2SO_4	[9]
Derivați epoxi, hidroxi- (di-+ tetra-), halohidroxi, hidroximercapto, eritreo și treo ai acizilor alifatici monocarboxilici (C_{18}+C_{22})	Silicagel G Silicagel G+ +US	— EP : Et_2O (20 : 80) — AN:AcOH: H_2O (70 : 10 : 20)	H_2SO_4	[10]
Derivați oxigenați ai acizilor alifatici monocarboxilici, hidroxi, epoxi, bromhidroxi, dihidroxi, tri- și tetrahidroxi	a) Silicagel G b) Idem+ $AgNO_3$ c) Idem+ glicol d) Idem+ acid boric 10%	1) MeOH : $CHCl_3$ (pentru dihidroxi-derivați cu faza staționară d, e și f);		[11]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
izomeri (esteri metilici)	e) Idem + borat de Na 10% f) Idem + arsenit de Na 10%	2) $CHCl_3$: MeOH (98 : 2) pentru trihidroxi derivați); 3) Idem (99 : 1) cu f; 4) Idem (24 : 1) (pentru tetrahidroxi derivați cu f; 5) Idem (9 : 1 cu e)		
Reactivi de identificare specifici pentru acizi alifatici monocarboxilici liberi și superiori			1) Tratare cu 2,7 DCF urmată de soluție alcoolică de $AlCl_3$ și soluție apoasă de $FeCl_3$; 2) Galben de alizarină; 3) Albastru timol	[12] [13]
Acizi bibazici alifatici	Silicagel G, Kieselgur G (1 : 3), uscare la aer	Atmosfera de AcOH 30, 40 sau 50% în apă apoi în alt vas cu C_6H_6 :AcOH 80% (40 : 7) (strat superior)	Uscare la 80°C apoi stropire cu 0,2% verde de bromcrezol (*p*H 6)	[14]
Acizi dicarboxilici alifatici (C_2-C_{10}) și hidroxiacizi	Silicagel G	EtOH 96%: H_2O : NH_4OH 25% (100 : 12 : 16) (atmosferă nesaturată), ca săruri de amoniu	Verde de bromcrezol	[15]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Acizi alifatici dicarboxilici și hidroxiacizi (saturați și nesaturați)	Silicagel G	1) C_6H_6: MeOH: AcOH (45:8:4) 2) C_6H_6: dioxan: AcOH (90:25:4)	1) Albastru bromfenol acidulat cu acid citric (după uscarea plăcii 1 oră la 120°C; 2) $KMnO_4$ alcalin	[16]
Acizi alifatici monocarboxilici (C_1-C_8) și dicarboxilici (C_2-C_{12}) (în prezență, de săruri de amoniu), acizi alifatici dicarboxilici nesaturați și aromatici mono- și dicarboxilici	Silicagel G	1) BnOH: EtOH abs.: NH_4OH. (8:75:8) (atmosferă nesaturată); 2) EtOH: C_6H_6: NH_4OH (15:5:5)	1) Verde de bromcrezol; 2) Albastru de bromfenol; 3) $KMnO_4$ alcalin	[17]
Cetoacizi și acizi alifatici dicarboxilici: oxalic, tartric, citric, malic, malonic, maleic, α-cetoglutaric, levulinic, succinic, adipic, fumaric	Silicagel G	1) EtOH: H_2O: $CHCl_3$: NH_4OH (28° Baumé) (80:12:2:6) 2) *i*—BnOH: EtOH: H_2O: NH_4OH (50:25:15:15) 3) BnOH: FOH 85%: H_2O (7:3:12) 4) Et_2O: FOH 85%: Me_2CO: H_2O (12:2:1:1)	1) Verde de bromcrezol sol. alcoolică + NaOH 0,1 N	[18]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Acizi carboxilici α, β — nesaturați	Silicagel G + $AgNO_3$	1) $CHCl_3$: MeOH (95:5)	2,7 DCF (0,1%) în EtOH	[19]
Acizi carboxilici saturați cu 2, 3, 4, 5 cicluri policondensate (separați din produse petroliere)	Silicagel DF-5 (Camag)	AcOH 0,5%: MeOH 1%: C_6H_6 98,5%	Detectare prin spectrometrie de masă	[20]
Acizi organici (din emulgatori): lactic, tartric, citric, acizi grași	Celuloză MN-300	AmOH: FOH:H_2O: (20:20:1)	1) Py:anhidridă acetică (5:2) și expunere la lumină U.V. sau apoi stropire cu 2) 8-Hidroxichinolină 0,05% în EtOH și vapori NH_3 (pentru acid lactic)	[21]
Acizi fenol-carboxilici : acid vanilic, acid 3,4-hidroxibenzoic, acid guaiacilacetic, acid 3,4-dihidroxifenil-acetic, acid guaiacilpropionic, acid dihidrocafeic, acid ferulic, acid cafeic, acid izoferulic, acid clorogenic	a) Silicagel G b) Silicagel G + diferiți agenți de complexare (care formează chelați ca: borax; $Na_2M_8O_4$; Na_2WO_4	1) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:5) 2) C_6H_6:dioxan: AcOH (45:8:4) 3) C_6H_6:dioxan: AcOH (90:25:4) 4) Et_2OH (saturat cu H_2O): AcOH (10:1) (pentru omologii guaiacolului) 5) AcOEt: *i*—PrOH: H_2O (65: 24:1) (pentru omologii cateholului)		[22]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Acizi benzoici	a) Celuloză MN-300 b) Kieselgur G impregnat cu 10% poliestertrietilenglicol adipat	1) *i*—BnOH: NH_4OH 25%:H_2O (7:1,5:3) 2) *i*—Pr_2O: EP:U: CCl_4: FOH (40: 20:20:10: 8:1)	Verde de bromcrezol 0,04% în EtOH+NaOH 0,01 N la *p*H 11,5	[23]
Acizi peroxibenzoici mono- și disubstituiți (izomeri)	a) Celuloză MN 300 4 R în EP: AcOH (10:1) b) Celuloză MN 300 Ac 10% —40% c) Poliamidă MN 6 d) Poliamidă MN 6/6 e) Poliamidă MN II	1) CCl_4: AcOH (10:1) 2) Clorbenzen: AcOH (10:1)	1) Soluție KI în AcOH apos; 2) Soluție *p*-amino-dimetil anilină hidroclorică în soluție de AcOH	[24]
Acizi organici (în toxicologie, acizi barbiturici)	a) Silicagel G b) Silicagel GF_{254} c) Kieselgur	1) $CHCl_3$: Et_2O (3:1) (pentru separarea barbituratelor de nebarbiturate) 2) $CHCl_3$: *i*—PrOH: NH_4OH 25% (65: 35:4) (pentru separarea barbituratelor)	Expunere la lumină U.V. (pentru b) sau reactiv Preusz și Kopp ($HgCl_2$-difenilcarbazonă)	[25]
Acizi hidroxibenzencarboxilici și cinamici	Celuloză MN-300 30 g+ poliamidă	AcOH 15%; 40%; 60%	1) Expunere la lumină U.V. 350 nm, după stropire	[26]

1	2	3	4	5
	Woelm DC 1 g+H_2O 170 ml+ EtOH 10 ml, se amestecă 30 s (0,380 mm), uscare 24 ore la temperatura camerei		cu acid difenilboric 2% și ester 2-aminoetil sau 2) 1% $FeCl_3$	
Aminoacizi	Celuloză MN-300 10 min la 105°C	1) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:5) 2) Py:MEC: H_2O (15:70:15) 3) PrOH: H_2O (7:3) 4) MeOH: H_2O:Py (80:20:4) 5) BnOH: FOH:H_2O (75:15:10) 6) PrOH: NH_4OH 8,8% (8:2) 7) EtOH: BnOH: H_2O:acid propionic (10:10:5:2) 8) fenol:H_2O (8:2) 9) fenol; tampon fosfat pH 12 (NaOH 0,067 N+ Na_2HPO_4 $12H_2O$ 0,67 M) (1:1)	Ninhidrină 0,2—0,3 g în 95 ml MeOH+ 5 ml 2,4,6-colidină 30 min la 70°C	[27]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Aminoacizi naturali	Celuloză MN-300 (15 g + 70 ml H_2O + 10 ml EtOH), uscare peste noapte	Bidimensional: a) *i*-PrOH: FOH:H_2O (40:2:10) b) *terț*-BnOH: MEC: NH_4OH 0,88%: H_2O (50: 30:10:10)	Ninhidrină 0,3% în EtOH + 20 ml AcOH + 5 ml colidină	[28]
Aminoacizi	Silicagel G	PrOH:H_2O (7:3)	Acetat cupric 0,5% + soluție de albastru variamin 0,05%	[29]
Aminoacizi	Celuloză MN-300	1) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:1); Bidimensional; a) BnOH: AcOH:H_2O (4:1:1); b) *terț*-BnOH: MEC:H_2O (50:30:10)	1) Ninhidrină 0,1% (BnOH saturat cu H_2O + 5 ml 2,4-lutidină, 10 min la 100°C 2) *p*-DABA 3) AFM 4) $KMNO_4$ 1% 5) NaOH 10%: nitroprusiat de Na 10%: ferocianură de potasiu 10% (1:1:1), apoi diluat cu 3 vol. acetonă 6) Izatină 7) acid sulfanilic diazotat 8) Vanilină—H_2SO_4 9) Verde de bromcrezol 10) Suprapuneri de stropiri (de exemplu 1+2)	[30]

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. *Braun, D., Vorendohre, G.* Chromatographia **1**, 1968, p. 405.
2. *Kaufmann, H. P., Makus, Z., Khoc, T. H.* Fette., Seifen. Anstrich., **63**, 1961, p. 689.
3. *Roomi, M. W., Subbaram, M. R., Achayo, K. T.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 106.
4. *Mangold, H. K., Kummereck, R.* Chem. Ind., (London), 1961, p. 1032.
5. *Hammonds, T. W., Shone, G.* J. Chromatog., **21**, 1966, p. 213.
6. *Johan, F., Onaca, I.* Cromatografia în strat subțire a acizilor alifatici monocarboxilici superiori, saturați și nesaturați (lucrare nepublicată).
7. *Kaufmann, H. P., Makus, Z., Khoe, F. H.* Fette, Seifen. Anstrich., **64**, 1962, p. 1.
8. *Stracchi, A., Piretti, M.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 181.
9. *Carreau, J. P., Roulin, J.* Z. Anal. Chem., **224**, 1967, p. 444.
10. *Roomi, M. W., Subbaram, M. R., Achaya, K. T.* J. Chromatog., **24**, 1966, p. 193.
11. *Moorris, L. Y., Wharry, D. M.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 27.
12. *Dudzinski, A. E.* J. Chromatog., **31**, 1967, p. 560.
13. *Wollenweber, P. W.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 369.
14. *Shoshi Miyazaki, Yasno Suhara, Tadashi Koboyashi.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 88.
15. *Braun, D., Geeman, H.* J. Chromatog., **7**, 1963, p. 56.
16. *Pastuska, G., Petrowitz, H. J.* J. Chromatog., **10**, 1963, p. 517.
17. *Johan. F., Onaca, I., Zaharia, M.* Separarea prin C.S.S. a acizilor alifatici monocarboxilici C_1—C_8 în prezența acizilor alifatici dicarboxilici C_2—C_{12} (lucrare nepublicată).
18. *Pifferi, Giorgio,* Bull. Lab. Chim. Provinciali, **171**, 1966, p. 445.
19. *Dutto, S. P., Barna, A. K.* J. Chromatog., **29**, 1967, p. 263.
20. *Seiffert, W. K.* Anal. Chem., **41**, 1969, p. 787.
21. *Gernert, F.* Lebensmittelunters. u. Forsch., **138**, 1968, p. 216.
22. *Pastuska, G.* Z. Anal. Chem., **179**, 1961, p. 355.
23. *Knappe, E., Stuck, J. I.* Z. Anal. Chem., **227**, 1967, p. 353.
24. *Kavcic, R., Plesnicar, B., Perdith, A.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 515.
25. *Prost, R. H., Reith, J. F.* Pharm. Weckbl. Ned., **104**, 1969, p. 25.
26. *Spiegl, P.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 93.
27. *Jones, K., Heathcote, J. G.* J. Chromatog., **24**, 1966, p. 106.
28. *Jones, K., Heathcote, J. G.* J. Chromatog., **24**, 1966, p. 106.
29. *Duk, E., Kwapniewski, Z., Sliviak,* J. Chem. Anal. (Warsaw), **23**, 1968, p. 194.
30. *Johan, F., Zaharia, M.* Separarea aminoacizilor din hidrolizate de carne (lucrare nepublicată).

Bibliografie suplimentară

Johnson, A. R., Murray, K., Fogerty, A. C., Kennett, B. H., Pearson, J. A., Shenstone, F. S. Lipide, **2**, 1967, p. 316 (acizi ciclopropenici).

Grodzinska, Z., Zachwieja, Kohl W., Warchoz, A. Chromatog., **29**, 1967, p. 362 (acizi clorogenici izomeri).

Chiari, D., Röhr, M. Microchim Acta, 1967, p. 140 (acizi cetocarbonici).

Suko, Y. Fette, Seifen. Anstrich. **63**, 1961, p. 828 (cetoacizi superiori, hidroxiacizi și lactonele acizilor alifatici superiori).

Scanned with OKEN Scanner

Bamford, P .C. Chem. Ind. (London), 1967, p. 277 (esterii metilici ai acizilor alifatici saturați și nesaturați+gliceride).
Monties, B., Bidan, P. Ind. Aliment. Agr. (Paris), **84**, 1967, p. 347 (acizi organici din fructe).
Bruemmer, J. M. Brot Gebaeck, **22**, 1968, p. 241 (acizi organici din cereale).
Wolff, J. P. Brot Gebaeck, **16**, 1968, p. 113; C. A., **70**, 1969, p. 107717 m (acizi grași și lipide).
Cotte, J., Collombel, C., Cuivre, M., Padis, L. Rev. Franc. Etudes Chim. Biol., **12**, 1967, p. 496. (α-cetoacizi din urină).
Baczyk, S., Duczmal, L. Mikrochim. Acta, **6**, 1968, p. 1291 (acizi organici din cereale).
Dyatlovitskaya, E. V. Izv. Akad. Nauk. SSSR. Ser. Him. 1965; C.A., **64**, 1966, p. 11450h (analiza structurală a amestecului complex de acizi alifatici).
Wieske, T., Rinke, H. Fette Seifen, Anstrich, **69**, 1967, p. 503 (esterii metilici ai acizilor cidoalifatici și aromatici).
Chakrabartg, M. M., Talapatra K. Rog, J. K. Fette Seifen. Anstrich. **69**, 1967, p. 642 (acizi alifatici saturați din uleiuri).
Knappe, E., Stuck, J. I. Z. Anal. Chem., **227**, 1967, p. 353 (acizi benzoici substituiți).
Munier, R. L., Thommegay, Ch., Sarrazin, G. Bull. Soc. Chim. France, 1967, p. 3971 (aminoacizi la analiză sistematică).
Trop, M., Grossman, S., Pinsky, A. J. Chromatog., **38**, 1968, p. 411 (α-hidroxi+ +α-cetoacizi+mercaptani).
Pallota, U. Qualitas Plant. Mater. Vegetabilis, **16**, 1968, p. 131; C.A., **70**, 1969, p. 116439 z. (izomerii acizilor mono- și polinesaturați alifatici).
Wollf, J. P. Qualitas Plant. Mater. Vegetabilis, **16**, 1968, p. 113; C.A., **70**, 1969, p. 7717 m (acizi grași și lipide).
Clark, M. E. Analyst (Londra) **93**, 1968, p. 810 (aminoacizi).
Duden, R., Czikajlo, M. Z. Anal. Chem., **245**, 1969, p. 289 (amestec de acizi grași și alți acizi organici).
Pensar, G. Suomen Kemistiseuran Tiedonantoga, **78**, 1969, p. 11; C.A., **70**, 1969, p. 116368 a (acizi grași și rezinici din rășinile din lemn).
Stahl, E., Dumont, E. J. Chromatog. Sci., **7**, 1969, p. 517; Anal. Abs., **249**, 1970, p. 256 (CSS cu gradient pentru acizi alifatici dicarboxilici nesaturați).
Shellard, E. J., Jollife, G. H., J. Chromatog., **38**, 1968, p. 257. (aminoacizi din polen).
Guyer, M. Jr., Sawicki, E. Anal. Chem. Acta., **49**, 1970, p. 182 (acizi organici).

11.7. Eteri, esteri, peroxizi, hidroperoxizi, chinone, anhidride, lactone, lactame și alți compuși oxigenați

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Metileteri zaharici	Celuloză microcristalină Avirin	Butanonă: apă (amestec azeotrop)		[1]

1	2	3	4	5
Metileteri zaharici: 2,3,4-tri-O-metil-D-xiloză; 4,6-di-O-metil-D-glucoză; 2,3,4-, 3,4,6-, 2,3,6-, 2,4,6-tri-O-metil-D-glucoză; 2,3,6-, 2,3,4-, 2,4,6-tri-O-metil-D-galactoză, 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucoză, 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-galactoză	Silicagel G	*i*—Pr_2O *i*—Pr_2O: MeOH (5:1)	1) Ftalat acid de anilină 2) Acid clorsulfonic:AcOH (1:2) 3) $KMnO_4$ 0,5% în NaOH 1 N la cald 4) H_2SO_4 la 105°C 5) Naftorezordinol: H_3PO_4	[2]
Eteri benzilici	Silicagel G	EP (65—100°C): MeOH (95:5)		[3]
Eteri ai polietilenglicolului (polietilenglicoli-steroli).	Silicagel G	Cromatografie continuă în cameră „Vario-KS“ 1) MEC saturat cu H_2O 2) $CHCl_3$: MeOH: H_2O (3:25:12)	1) Reactiv Dragendorff modificat. 2) Sol. I_2 0,005 N și apoi stropire cu amidon 0,2%	[4]
Acetați de zaharuri: glucoză pentaacetat, maltoză octaacetat, sucroză octaacetat, lactoză octaacetat, celuloză octaacetat, acetații unor alcooli zaharici	Silicagel G 30 min la 140°C	C_6H_6:EtOH (95:5)	$HCl \cdot NH_2OH$ 2,5% în MeOH:NaOH 12,5% în MeOH 5%; (1:1), 5 min la cald apoi stropire cu 20 ml perclorat feric (greutate spe-	[5]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			cifică 1,26)+20 ml HCl conc. și se aduce la 100 ml cu EtOH	
Esterii zaharurilor cu acizi grași	Silicagel G	1) MeOH: $CHCl_3$: AcOH (3:16:1) 2) Idem (1 : 8 : 1) 3) MeOH: $CHCl_3$: AcOH: H_2O (5:40:4:1)		[6]
Fosfați de zaharuri	Celuloză ECTEOLA 2 g în 18 ml EDTA 0,004 *M* pH 7, uscare peste noapte la aer, apoi stropire cu $(NH_4)_3BO_3$ 0,1 M	EtOH 95%: $(NH_4)_3BO_3$ 0,1 M *p*H 9 (3:2)	1) Benzidină-acid tricloracetic și apoi stropire cu molibdat de amoniu	[7]
Monoesteri fosforici și sulfuri	Celuloză MN 300 40 min la —50°C	BnOH: AcOH: H_2O (5 : 3 : 2)		[8]
Esteri ai H_2PO_4, H_3PO_3, H_3PO_2	Silicagel G	1) Me_2CO: H_2O: MeOH (15 : 5 : 2) 2) *terț*-BnOH: AN:NH_4OH conc. (5 : 4 : 1) cu 0,09% acid tricloracetic.	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ 4%:HCl conc.: HClO 70%:H_2O (25 : 2 : 5 : 68), 10 min la 80°C pentru celuloză și 110°C pentru silicagel. Expunere la	[9]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Celuloză	3) MeCO: *terț*-BnOH: H_2O—NH_4OH conc. (5 : 4 : 1) 1) *i*-PrOH: NH_4OH conc. (3:1) 2) PrOH: NH_4OH conc.: H_2O (6:3:1)	H_2S pentru esterii care nu conțin S.	
Aril+alchil fosfiți	Silicagel G	$CHCl_3$+ Me_2CO (95:5)	Iod 2% în $CHCl_3$ apoi stropire cu: iod 0,1 N: H_2SO_4 diluat (1:1)	[10]
Esteri flavonici	Silicagel G	1) C_6H_6 2) TFE-TClE: CH_2Cl_2 (60 : 40)	1) $KMnO_4$ 0,5 g în 15 ml H_2SO_4 96% 2) Vanilină 5% în H_2SO_4 conc.	[11]
Chinone naturale	Silicagel G	C_6H_6	$K_3[Fe(CN)_6]$—$FeCl_3$	[12]
Hidrochinone	Celuloză MN 300 Ac 10%; Celuloză Mn 300 g/Ac 10 g+ 50 ml MeOH+ 5 ml H_2O la 85°C apoi 2 ore la aer	AcOEt:TH: H_2O (6:35:47)	1) Expunere la lumină U.V. (350 nm) 2) KOH alcoolic 0,5 N 3) Acetat de nichel 5%	[13]
Amino-antrachinone	Alumină fără liant	C_6H_6:Me_2CO (3:1)	*p*-DABA	[14]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Anhidridele acizilor dicarboxilici ciclici (ca derivați de *p*-anisidină	Silicagel (MN) N-HR	C_6H_6:TH: acid propionic (80:30:5)	*p*-DABA 1% în EtOH+ +HCl 5%	[15]
Oxime izomere	Silicagel G	1) C_6H_6: AcOEt 2) C_6H_6: MeOH abs.	$CuCl_2$ 0,5%	[16]
Chinone, hidrochinone și fenoli	Poliamidă acetilată	MeOH:H_2O: Me_2CO		[17]
Lactone, lactame, tiolactone (ca derivați ai acizilor hidroxamici	Silicagel G	1) *i*-Pr_2O 2) *i*-Pr_2O: AcOEt (8 : 2) 3) *i*-Pr_2O: izooctan (2:8) 4) Idem (6:4) 5) C_6H_{14} 6) C_6H_{12} 7) Izooctan 8) $CHCl_3$ 9) Me_2CO 10) C_6H_6	1) $FeCl_3$ 2) Reactiv Dragendorff	[18]
Lactone-flavone	Silicagel	1) CCl_4: AcOH (9:1) 2) FOH 90%: H_2O (1 : 2) 3) BnOH: FOH 90% (9:1)	1) Expunere lumină U.V. 2) Fluoresceină 0,005% în EtOH	[19]
Derivați de cumarine	Silicagel G	1) Me_2CO: izooctan: H_2O (100:40:1) 2) Me_2CO: AcOET: EP:H_2O (100:100: 33 : 3,5)	1) Expunere lumină U.V. 250 nm 2) $KMnO_4$ 1%, 10 min la 110°C	[20]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		3) 4-Metil-2-pentanonă: Me_2CO: EP (6:2:2)		
Derivați de 4-hidroxicumarină substituită (compuși de la prepararea nitrovarfarinei): acid malonic, fenol, difenilmalonat, 4-hidroxicumarină, benzilidenacetonă, *p*-nitrobenzilidenacetonă, nitrovarfarină, varfarină, *p*-clorbenzilidenacetonă, cumaclor, dietilmalonat, acid *n*-hexilmalonic, 3-*n*-hexil-4-hidroxicumarină	Silicagel G Silicagel G tamponat cu H_3BO_3 0,1 N	1) EP:Et_2O:$CHCl_3$:AcOH (10:5:7:1) 2) $CHCl_3$:MeOH:T (100:20:30)	1) Amestec proaspăt preparat din: $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în 50% EtOH: $FeCl_3$ 1% în EtOH (2:1) 2) Compușii nereducători care nu reacționează cu 1) se stropesc cu amestec acid sulfuric: acid cromic 15 min la 130°C	[21]

Bibliografie

1. *Wolfrom, M. L., Patin, D. L., de Lederkremer, R. M.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 488.
2. *Tschesche, R., Wulff, G.* Tetrahedron, **19**, 1963, p. 621.
3. *Tate, M. E., Bishop-Can, C. T.* J. Chem., **41**, 1963, p. 1801.
4. *Toma, K., Rombach, R., Ullman, E.* Arch. Pharm., **298**, 1965, p. 19.
5. *Dumazert, C., Ghiglione, C., Pugnet, T.* Bull. Soc. Pharm. Marseille, **12**, 1963, p. 337.
6. *Kinoshita, S.* Koga, Kogaku Zasshi, **66**, 1963, p. 450; C.A., **60**, 1964, p. 3207 h.
7. *Dietrich, C. P., Dietrich, S. M. C., Pontis, H. G.* J. Chromatog., **15**, 1964, 277.
8. *Rabinovitz, J., Bachler, E., Weber, G.* Helv. Chim. Acta, **49**, 1966, p. 590.
9. *Lamotte, A., Merburi, J. C.* J. Chromatog., **38**, 1966, p. 296.
10. *Neubert, G.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 342.
11. *Attaway, J. A., Wolford, R. W., Edwards, G. J.* Anal. Chem., **37**, 1965, p. 74.
12. *Burnett, A. R., Thomson, R. H.* J. Chem. Soc., **852**, 1968, p. 852.

Scanned with OKEN Scanner

13. *Masschelein, L. — Kleiner.* Mikrochim. Acta, 1967, p. 1082.
14. *Obruka, K., Slosar, J., Arient, J.* Mikrochim. Acta **1—2**, 1966, p. 257.
15. *Knappe, E., Rohdewald,* Z. Anal. Chem., **232**, 1967, p. 341.
16. *Hranisavljevie, J. M., Jakovljevic, Pejcovic-Tadric, J., Stojiejkovic, A. J.* Chromatog, **12**, 1963, p. 70.
17. *Grau, W., Enders, H.* J. Chromatog., **17**, 1965, p. 585.
18. *Korte, F., Vogel, J.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 381.
19. *Wanig, K. T., Wang, I. S. Y.* J. Chinese Chem. Soc. (Taiwan), **8**, 1961, p. 241.
20. *Copenhaver, J. H., Carver, M. J.* J. Chromatog., **6**, 1965, p. 229.
21. *Gavăt, L., Dinescu, M., Johan, F., Susan, A. B.* Journal of Radioanalytical Chemistry, **2**, 1969, p. 435.

Bibliografie suplimentară

Bancher, E., Waschnettl, J. Mikrochim Acta, 1967, p. 223 (esteri fosforici).
Waring, P. P., Ziporin, Z. Z. J. Chromatog., **15**, 1964, p. 168. (hexozofosfaţi şi triozofosfaţi).
Reuter, H., Hanke, H. Pharm. Zentralhalle, **104**, 1965, p. 323. (esteri etilfosforici).
Pietsch, H. P., Meyer, R. Nahrung, **9**, 1965, p. 151 (tricrezilfosfat şi ftalaţi din polimeri).
Sorokina, A. N., Batog, A. E., Romantsevich, M. K. Zh. Obshch. Khim., **37**, 1967, p. 766 (peroxizi organici+hidroperoxizi).
Harrison, V. J., Weatherston, J. J. Chromatog., **31**, 1967, p. 258 (benzochinone naturale).
Henniger, M. D., Mogree, L., Crane, F. L. Biochim. Biophys. Acta, 1967, p. 119 (plastochinone din cloroplaste).
Kotacemori, M., Okada, K. Agr. Biol. Chem. (Tokyo), **30**, 1966, p. 935; C.A., **66**, 1967, p. 10139 (naftochinone substituite).
Rahiant, J. Oliver, C., van Bijben, H., Gillo, L. Ann. Pharm. Franc., **25**, 1967, p. 23 (derivaţi ai 4-hidroxicumarinei şi dimetilaminoetanolului).
Kipper, K. Ya, Klesment, E. R., Saluste, S. Ya, Eizen, O. G., Randsepp, K. T. Tr. Tallinsk Politehl. Inst. Ser. A. No. 30, 1965, p. 77; C.A., **66**, 1967, p. 10805t. (hidroxifurani).
Labadie, R. P., Baerheim, A. Svendsen — Pharm. Weekbl, **102**, 1967, p. 615; C.A., **67**, 1967, p. 10585q (antrachinone naturale).
Glabik, B., Walczyk W. Chem. Anat. Warsaw, **12**, 1967, p. 1299 (peroxizi organici: *terţ*-butilhidroperoxid din *terţ*-butilperftalat şi din 2,2-bis-(*terţ*-butilperoxi)-butan şi diarilperoxizi).
Viswanathan, C. V., Phillips, F., Lundberg, W. O. J. Chromatog., **30**, 1967, p. 237 (eteri omologi+bis-glicidileteri).
Durisinova, L., Bellus, L. D. J. Chromatog., **32**, 1968, p. 584, (2-hidroxilbenzofenone).
Haigh, W. G., Hanaham, D. J. Biochim. Biophys. Acta, **98**, 1965, p. 640 (gliceril-eter).
Nemee, J., Kefurt, K., Jary, J. J. Chromatog., **26**, 1967, p. 116 (lactonele acizilor aldonici).
Durisinova, L., Bellus, L. D. J. Chromatog., **32**, 1968, p. 584. (2-hidroxibenzofenone).
Knappe, E. Farbe Lack, **75**, 1969, p. 36 (peroxizi organici, anhidridele acizilor dicarboxilici din aminorăşini).

Scanned with OKEN Scanner

11.8. Amine, amide, nitrili, nitrozo-, nitroderivați, săruri cuaternare de amoniu, compuși heterociclici cu azot

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Amine alifatice primare, secundare, terțiare (C_8—C_{10}) și superioare	Alumină G în $CHCl_3$: MeOH (7 : 3), activată 1 oră la 100°C	1) AcO *i*-Bn (pentru amine primare și terțiare) 2) AcO *i*-Bn: AcOH (98:2) (pentru amine secundare)	Soluție de cobaltotiocianat 10 g NH_4SCN +10 g $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ + +100 ml H_2O	[1]
Alcanolamine	Silicagel G	CH_2Cl_2: EtOH: NH_4OH (43:43:15)	10 min la 110°C apoi stropire cu ninhidrină, 5 min la 110°C apoi cu sol. diluată de alizarină	[2]
Etanolamine și derivați eter vinilici	Alumină	1) C_6H_6: MeOH (9:1) 2) MeOH: $CHCl_3$ (2:98) 3) AcOEt 4) Me_2CO: C_7H_{16} (1:1) 5) MeOH: H_2O (4:1)		[3]
Etilenamine	Silicagel G	NH_4OH 25%:EtOH (2:1)	Vapori de iod	[4]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Amine alifatice (*a*) și aromatice (*b*)	Silicagel D+ tampon fosfat *p*H 6,8	1) Me_2CO: AcOH: H_2O (35:10:5) 2) Idem (35:10:2,5) (pentru *a*) Bidimensional (pentru *b*) a) $CHCl_3$ b) $CHCl_3$: MEC: AcOH (40 : 5 : 5)	1) Ninhidrină 0,2% în 2% AcOH în MeOH (pentru *a*) 2) Diazotare și cuplare cu α-naftol sau *p*-DABA	[5]
Ciclohexilamine (stereoizomeri)	Silicagel G	EP:amestec (NH_4OH conc.: Me_2CO 8:17) (2:98)	1) Sol. I_2 0,1 N: H_2SO_4 10% (1 : 1) 2) Reactiv Dragendorff modificat după Munier*)	[6]
Amine primare și secundare	Silicat de magneziu Alumină neutră	1) $CHCl_3$: MeOH (1:1) 2) PrOH: H_2O: $CHCl_3$ (6:2:1)		[7]
Amine aromatice și heterociclice cu azot (puternic polare)	Alumină fără liant (grad de activitate III pentru faza mobilă 1, 2, 3, 5)	1) Me_2CO: MeOH: H_2O (8:2:1) 2) MEC: H_2O (15:1) 3) Me_2CO: C_7H_{16} (1:1) 4) $CHCl_3$ saturat cu NH_4OH la 22°C		[8]

*) Prepararea reactivului: *Sol. a:* 1,7 g nitrat bazic de bismut, + 20 g acid tartric în 80 ml H_2O. *Sol. b:* 16 g KI se dizolvă în 40 ml H_4O. Se amestecă soluțiile *a* și *b*. Pentru stropire se iau 5 ml din această soluție de bază și se amestecă cu o soluție din 10 g acid tartric în 50 ml H_2O.

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		5) ($CHCl_3$—NH_4OH): EtOH 96% (30:1) 6) $CHCl_3$ (saturat cu NH_4OH): C_6H_6 (1:1)		
Amine aromatice	Silicagel G cu: 1) H_2O 2) $Zn(NO_3)_2$ 10% sau 3) $Cd(NO_3)_2$	1) C_6H_6: MeOH (5:1) 2) C_6H_6: MEC (3:1)		[9]
Amine aromatice primare	Acid alginic Carboximetilceluloză (forma H^+)	1) AcOH 1N 2) FOH 1N 3) Acid cloracetic 1N 4) Acid hidrocloric 1) H_2O 2) AcOH 1N		[10]
α- și β-Naftilamine	Silicagel G	1) C_6H_6 2) EP:AcOH (85:15) 3) EP:MEC (9:1) 4) C_6H_6: MeOH (97:3) 5) C_6H_6: AcOH (9:1)	1) Diazotare cu 5% $NaNO_2$ 2) $K_3[Fe(CN)_6]$—$FeCl_3$ 3) *p*-DABA	[11]
Anilină+difenilamină+carbazol	Silicagel G	EP:C_6H_6:Me_2CO (75:20:5)	*p*-DABA 0,25% în soluție alcoolică de HCl 0,25 N	[12]
Difenilamină+metildifenilamină+iodură de dimetildifenilamină	Silicagel G	1) EP : C_6H_6 (8:2) 2) MEC: AcOH (75:25)	1) *p*-DABA 2) Reactiv Dragendorff (pentru săruri cuaternare de amoniu)	[13]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Anilină+derivaţi N-hidroxilaţi: anilină, N-hidroxietilanilină, N, N'-dihidroxietilanilină	Silicagel G	C_6H_6:Me_2CO (4:1)	1) $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în EtOH 50%: $FeCl_3$ 5% în EtOH (1:1) 2) AFM 20% în EtOH, 15 min la 100°C 3) *p*-DABA 0,25% în HCl 0,25 N 4) Reactiv Dragendorff 5) $KMnO_4$ 1%: Na_2CO_3 1% (1:1)	[14]
Amine aromatice primare, aniline substituite (R fiind —CH_3; —NH_2; Cl—; Br—; —OCH_3; —OC_2H_5; —NH_2; —NO_2; —NH_2+COOH—; —NH_2+OH—; —OCH_3+NH_2—; —Cl+OCH_3—)	Silicagel G+acetat de sodiu pentru faza mobilă 1—4, 0,2 mmol, iar pentru faza mobilă 5,1 mmol)	1) C_6H_6: AcOH (85:15) 2) C_6H_6: AcO Bn: AcOH (65:20:15) 3) C_6H_6: AcOBn: AcOH (60:30:10) 4) AcOBn: AcOH (9:1) 5) MEC: AcOH (9:1)	*p*-DABA	[15]
Catechol amine	Poliamidă (WOELM) 7 g+45 ml MeOH	*i*-BnOH: AcOH: C_6H_{12} (80:7:10)	1) *p*-Nitroanilină 0,1% în HCl 0,23 M: $NaNO_2$ 0,2% în apă: K_2CO_3 10% în apă (1:1:2) 2) 10 g $(CH_2 \cdot NH_2)_2$ în 100 ml H_2O sau 100 ml NaOH diluat	[16]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Nitroamine alifatice substituite	Silicagel G	1) C_6H_6: NO_2CH_3 (2:1) 2) $CHCl_3$: NO_2CH_3 (10:1) 3) Me_2CO: EP (1:2) 4) Et_2O: Me_2CO (10:1)		[17]
Nitroaniline substituite	Silicagel G	C_6H_{14}: Me_2CO (3:1)	1) Diazotare; 2) α-Naftol; 3) $K_3[Fe(CN)_6]$ —$FeCl_3$	[18]
Compuși polinitroaromatici	Silicagel G	T : C_6H_6: C_5H_{12}: Me_2CO (40:40:20:5)	Amestec EDA: DMSO (1:1)	19]
Nitrozoderivați	Silicagel stropit cu naftol (1 g) în MeOH: etandiol: HCl (5:4:1) (20 ml), 20 min la 105°C	1) C_6H_6: MeOH (4:1) 2) C_6H_{12}; Py (7:3) 3) C_6H_6: dioxan: AcOH (90:25:4) [(1 și 2) pentru separarea 4-nitrozofenol de 4-amino și 4-nitrofenol]		[20]
Nitrofenotiazine și nitrodifenilsulfuri	Silicagel G spălat cu $CHCl_3$	1) C_6H_6 2) C_6H_6: C_6H_{14} (7:3) 3) Idem (1:1) 4) Py: C_6H_{14} (1:9)	Vapori de iod	[21]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Aniline halosubstituite	Silicagel G activat 30 min la 85°C și impregnat cu 20% α-bromnaftalină în hexan	1) AcOH 10% 2) Acid izobutiric 2% 3) Acid dicloracetic 5% 4) C_6H_6: AcOBn: AcOH (65:20:15)	*p*-DABA	[22]
Feniletanolamine izomere substituite	Silicagel HF_{254} activat 1 oră la 110°C (0,3—0,4 mm)	1) EtOH 96%: H_2O: NH_4OH conc. (40:60:2); 2) C_6H_6: Me_2CO: NH_4OH conc. (70:30:2)	1) Indicatori de fluorescență 2) Reactiv Dragendorff modificat	[23]
Derivați cu azot ai: benzenului, fenolului, toluenului, clorbenzenului, azobenzenului, benztriazolului, fenazinei, benzidinei	Silicagel G	1) C_6H_6 2) C_6H_6: MeOH (4:1) 3) C_6H_6: dioxan: AcOH (90:25:4)		[24]
Heterocicli cu azot, derivații chinolinei și piridinei	Silicagel G (puțin activat)	1) $CHCl_3$ 2) C_6H_6 3) C_6H_6: MeOH (95:5) 4) MeOH 5) AcOEt 6) Me_2CO	Reactiv Dragendorff	[25]
Heterocicli cu azot derivați indolici	Silicagel G (Camag) Cromatobenzi de tip silicagel G (Eastman-	$CHCl_3$: MeOH: AcOH (75:20:2) sau $CHCl_3$: AcOH 96%	1) Reactiv van Urk: 1 g *p*-DABA în 50 ml HCl (dilu-	[26]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Kodak+ Gelman-Instant)	(95:5) apoi cu: AcOMe: *i*-PrOH: NH_4OH (45:35:20) sau *i*-PrOH: NH_4OH· H_2O (100:5:10)	ție 1:19)+ 50 ml EtOH 2) Reactiv Erlich: 1 g *p*-DABA în EtOH 96% 3) Reactiv Prochazka: 10 ml CH_2O 35%+ 10 ml HCl 25%+ 20 ml EtOH	
Heterocicli cu azot, carbazoli și carbazoli polinucleari	Alumină G 1 oră la 110°C Celuloză	1) C_5H_{12}: $CHCl_3$ (3:2) (pentru separarea carbazolului de fenol și hidrocarburi aromatice policondensate) 2) NH_4OH conc. (pentru separarea carbazolilor)	1) Hidroxid de tetraetilamoniu 29% în MeOH 2) Lumină U.V.	[27]
Derivați carbazolici	Silicagel G	C_6H_6: acid oxalic 5%: H_2O	180°C la 10 min.	[28]
Derivați carbazolici	Alumină G 1 oră la 110°C	1) EP: $CHCl_3$ (10:1) 2) EP:AcOH (10:1)	1) NaOH 2N în EtOH și lumină U.V. 2) Sol. sat. de acid picric în C_6H_6 cu 1% AcOH	[29]
Săruri de tetrazolium	Silicagel G la 37°C	1) BnOH: H_2O: AcOH (78:17:5)	1) Ascorbat alcalin de sodiu (formare de formazani)	[30]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		2) C_6H_{14}: diclormetan (2:3) (pentru formazanii formați prin picurarea pe strat a $(NH_4)_2S$ 3) 3-Metilbutan-1-ol: FOH: H_2O (8:1:1)	2) Vapori de $(NH_4)_2S$	
Baze cuaternare de amoniu, derivați de colină	Celuloză Mn 300	Tehnica în trepte: 1) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:5) 2) $CHCl_3$: MeOH: H_2O (75:22:3)	Reactiv Dragendorff	[31]
Compuși amidici, aminici, nitrili etc. (compuși lipofili, acizi grași și gliceride	Silicagel G	1) EP:Et_2O: AcOH (9:10:1) 2) *i*-Pr_2O+ 1,5% Me_2CO		[32]
Amide alifatice substituite	Silicagel DCF_{254}	C_6H_{12}: *i*-PrOH: AcOET (4:2:2)	1) 2,4-DNFH 0,1 g + 10 ml HCl conc. în 100 ml EtOH, 2 min la 110°C, apoi stropire cu, iod 1% în MeOH 2) Sulfat acid de amoniu la cald	[33]
Oleamidă	Silicagel G	EP: AcOH: $CHCl_3$: Et_2O (100:2:40:40)	1) AFM 20% în EtOH 2) Fluoresceină 0,05%	[34] [35]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			3) 2,7-DCF și expunere la vapori de Br_2 (pentru nesaturate) 4) Ninhidrină (amine alifatice)	
Uree substituită (*a*) și uretani (*b*)	Poliamidă MN acetilată (mai mult pentru (*a*) Silicagel MN-NHR	—CCl_4: ACOEt: EtOH (100:5:2) —CCl_4: diclormetan : AcOEt: FOH (70:50:15:10)	*p*-DABA 1% în 95 ml EtOH+5 ml HCl conc.	[36]
Derivați ai acidului carbamic și produșii lor de hidroliză (amide, guanidine)	Celuloză MN-300 Celuloză MN-SN-HR	—MeOH: NH_4OH 3 N (60:75) —AN : EP: CCL_4 : TH: H_2O : FOH (80:10:10: 10:10:4)	15 min la 105°C apoi stropire cu 1% *p*-DABA în 100 ml EtOH+5 ml HCl conc.	[37]
Uree-amide	Rășină ureoform-aldehidică	BnOH: AcOH anhidru: sol. sat. KCl (4:1:5)		[38]
Nitroderivați	Silicagel G	1) C_6H_6: EtOH (49:1) (pentru compușii cu o grupă NO_2) 2) C_6H_5Cl: AcOH: $C_6H_5NO_2$ (9:1:10) (pentru compușii cu 2 sau mai multe grupe NO_2)	3,3-Diaminodipropilamină 30% în Py	[39]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Nitroderivați, nitroclorbenzeni	Alumină (grad III de activitate 60—100 DIN Spolana)	1) C_6H_{14}: Me_2CO (7:1); 2) Idem (10:1) 3) Idem (15:1) 4) Idem (30:1) 5) C_6H_{14} 6) C_6H_{12}: Me_2CO 7) Idem (7:1)	1) Lumină U.V.; 2) Reducere cu $SnCl_2$ și apoi stropire cu reactiv Erlich 3) NaOH în EtOH apoi stropire cu NaOH în Me_2CO	[40]
Nitroclorbenzeni (izomeri)	Silicagel G, 30 g + pulbere zinc 1 g + H_2O 55 ml	C_6H_{14}: Me_2CO (8:1)	*p*-DABA	[41]
Alchil- și aril-nitrozoamine	Silicagel G	1) C_6H_{14}: Et_2O: diclormetan (4:3:3) (pentru derivații alchilați) 2) Idem (5:7:10) (pentru derivații arilici)	DFA 1,5% în EtOH: clorură de paladiu 0,1% în soluție salină 2% (5:1) apoi lumină U.V.	[42]
Piridinium-aldoxime cuaternare	Celuloză 144 LS (schleicher-Schull) 25 g + 2 g amidon	Bidimensional a) *i*-AmOH: Me_2CO: AcOH: H_2O (54:24:6:14) b) *n*-PrOH: AcOH: H_2O (8:1:1)	1) Expunere la lumină U.V. 2) Reactiv Dragendorff	[43]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Izomerii geometrici și de poziție ai piperazinei di- și tetrasubstituite	Silicagel GF_{254}	1) AcOEt: MeOH (4:1) 2) C_6H_6 anhidru	Expunere la lumină U.V. 254 nm	[44]
Antocianidine	Celuloză microcristalină	Bidimensional a) MeOH: HCl conc.: H_2O (190:1:10) b) AmOH: AcOH: H_2O (2:1:1)		[45]
Antocianine	Celuloză microcristalină	Bidimensional a) BnOH: HCl conc.: H_2O (5:2:1) b) H_2O: HCl conc.: FOH (8:4:1) sau a) BnOH: AcOH: H_2O (6:1:2) b) H_2O: HCl conc.: acid propionic (10:2:3)		[46]
Alchilpiridine	Silicagel VEB (Greiz-Dölau) în $NaCH_3COO$ 0,01 M (25 g în 40 ml)	1) $CHCl_3$ 2) AcOEt 3) Me_2CO 4) MeOH 5) $CHCl_3$: Me_2CO (1:3) 6) $CHCl_3$: AcOEt (2:1)	Expunere la vapori de iod	[47]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		7) Et_2O: C_6H_{12} (2:1) 8) Et_2O: $CHCl_3$ (1:4)		
Hidroxilamine N,N-disubstituite, amine primare înrudite și nitroxizi	Silicagel G 25 g + 60—65 ml H_2O, 20 min la 110°C	1) MeOH 2) Me_2CO: MeOH (6:4) 3) Et_2O	KMO_4 1% apoi expunere la vapori de iod	[48]
Anilidele acizilor fenilcarboxilici	— Alumină G inactivă, (uscare peste noapte la aer) — Poliamidă, 10 min la 80°C	— C_6H_{14}: AcOEt (10:3) — T : MeOH (10:2,5)	Expunere la lumină U.V. 254 nm	[49]
Nitrilii acizilor dicarboxilici (C_3—C_8)	Silicagel G activat cîteva ore la 120°C	$CHCl_3$ cu 10% H_2SO_4 0,1 N: 2-butenă (95:5)	H_2SO_4 2 N: perhidrol (9:1) 40—60 min la 120°C sărurile de amoniu rezultate la hidroliză se identifică prin stropire cu sol. *p*-nitroanilină diazotată și apoi stropire cu NaOH 2 N)	[50]

Bibliografie

1. *Lane, E. S.* J. Chromatog., **18**, 1968, p. 426.
2. *Lynes, A.* J. Chromatog., **23**, 1966, p. 316.
3. *Chekulaeva, I. A., Bystrova, I. B., Talypina, G. V., Ostrovski, S. A.* Zh. Analit. Khim., **21**, 1966, p. 1026.
4. *Parrish, J. R.* J. Chromatog., **18**, 1965, p. 535.
5. *Gerlach, H., Senf, H.* J. Pharm. Zentralhalle, **105**, 1966, p. 93; Z. Anal. Chem., **331**, 1967, p. 370.

Scanned with OKEN Scanner

6. *Feltkamp, H., Koch, F.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 314.
7. *Grasshof, H.* J. Chromatog., **20**, 1965, p. 165.
8. *Mistryukov, E. A.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 314.
9. *Shimonura, K., Walton, H. F.* Separation Sci, **3**, 1968, p. 493.
10. *Cozzi, D., Desideri, P. G., Lepri, L., Coas, V.* J. Chromatog., **43**, 1969, 463.
11. *Johan, F., Onaca I.* Separarea prin C.S.S. a α- şi β-naftil aminelor (lucrare nepublicată).
12. *Zaharia, M.* Metodă de analize prin C.S.S. a DFA, anilinei şi carbazolului (lucrare nepublicată).
13. *Zaharia, M.* Separarea prin C.S.S. a DFA, metil-DFA şi iodurii de dimetil-DFA (lucrare nepublicată).
14. *Johan, F.* Metodă de analiză prin C.S.S. a anilinei şi derivaţilor N-hidroxilaţi (lucrare nepublicată).
15. *Bassl, A., Keckemann, H. J., Bauman, E.* J. Prakt. Chem., **36**, 1967, p. 27.
16. *Segura, R., Cordona, Svehring, K.* Med. Exptl. **10**, 1964, p. 251.
17. *Bell, J. A., Dunstan, J. J.* Chromatog., **24**, 1966, p. 253.
18. *Kesmani, C. L., Weber, D. J.* J. Chromatog., **30**, 1967, p. 130.
19. *Hoffsommer, J. C., Mc Cullough, J. F.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 508.
20. *Kenji Yasuda, Kyozo Nakashima* Japan Analyst, **17**, 1968, p. 732.
21. *Suresh Kumar Jani, Mital, R. L.* J. Chromatog., **37**, 1968, p. 535.
22. *Bassl, A., Heckermann, H. J., Baumann, E.* J. Prakt. Chem., **36**, 1967, p 278.
23. *Mörle, H., Feil, R.* J. Chromatog., **34**, 1968, p. 264.
24. *Pastuska, G., Petrowitz, H. J.* Chemiker Ztg., **88**, 1964, p. 311.
25. *Pastuska, G., Wagner, S.* Chemiker Ztg., **89**, 1965, p. 7.
26. *Benasse, C. A., Veronese, F. M., Gini, E.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 517.
27. *Bender, D. F., Sawicki, E., Wilson, R. M.* Jr. Anal. Chem., **36**, 1964, p. 1011.
28. *Zielinska, E.* Chem. Anal. (Warsaw), **14**, 1969, p. 398.
29. *Dutta, J., Hoque, M., Chakrabarty, D. R.,* J. Chromatog., **42**, 1969, p. 555.
30. *Tyrer, J. H., Eadie, M. J., Hooper, W. D.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 312.
31. *Bayzer, H.* Experientia, **20**, 1964, p. 233.
32. *Kelly, M.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 264.
33. *Vandenbranden, S., Moussebois, C.* J. Chromatog., **37**, 1968, p. 364.
34. *Johan, F., Zaharia, M., Onaca, I., Biazzi, F.* Rev. Chimie Bucureşti, **17**, 1966, p. 643; C.A., **66**, 1967, p. 91434 w.
35. *Biazzi, F., Paltin, E., Johan, F., Zaharia, M., Onaca, I.* Rev. Chimie, **16**, 1965, p. 428.
36. *Knappe, K., Rohdewald, I.* Z. Analyt. Chem., **217**, 1966, p. 110.
37. *Knappe, K., Rohdewald, I.* Z. Anal. Chem., **223**, p. 174, 1966.
38. *Ardelt, H. W., Lange, P.* Z. Chem., **3**, 1963, p. 266; A. A. **II**. 1964, p. 4634.
39. *Trachman, E., Fono, A. Ma, T. S.* Mikrochim Acta **6**, 1968, p. 1185.
40. *Abruha, K., Navratil, F.* Chem. Prumysl., **17**, 1967, p. 157.
41. *Johan, F.* Metodă de analiză prin C.S.S. a nitroclor benzenului şi izomerilor săi (lucrare nepublicată).
42. *Preussmann, R., Daiber, D., Hengg, H.* Nature, **201**, 1964, p. 502.
43. *Kuhnen, A.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 481.
44. *Giao Dao Huy, Verdier, A., Lettes, A.* J. Chromatog., **41**, 1969, p. 107.
45. *Mullick, D. B.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 291.
46. *Nybom, N.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 382.
47. *Barsch, H., Moll, K. K., Thomanek, U.* J. Prakt. Chem., **311**, 1969, p. 160.
48. *Weil, J. T.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 381.
49. *Bories, G. F.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 381.
50. *Eulenhöfer, H. G.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 198.
51. *Jones, G. R. N.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 336.

Scanned with OKEN Scanner

Amal, H., Gursu, E., Demir, S. Symp. V. Chromatog., Electrophorese, Bruxelles, 1969, p. 441, (arilamine și arilaminometilftalimide).
Granik, E. M., Chemerisskaya, A. A. Khim. farmatsevt Zh., 3, 1969, p. 32. Referat. Zh. Khim. 19, GD, 14, 1969, p. 14 G 204 (derivați N-oxizi de chinoxalină).
Dichiaro, J. V., Shipton, G. F., Keller, R. A. J. Chromatog. Sci. 7, 1969, p. 91 (dimetilnitrodifenați).
Papke, K., Pohlondek, R. Fabini Pharmazie, 22, 1967, p. 486. (anilină clorosubstituită).
Vernin, G., Metzer, J. Bull. Soc. Chim. France, 3, 1967, p. 846. (heterociclii tiazolici și benzotiazolici).
Mlodecka, J., Sekowska, B. Chem. Anal. (Warsaw), 13, 1968, p. 161. (derivații acizilor nicotinici).
Gasco, M. R., Riv. ital. Sast. Grasse, 43, 1966, p. 175 (săruri cuaternare de amoniu, detergenți).
Seeboth, H., Goersch, H., Buettner, W. Monats. Deut. Akad. Wiss. Berlin, 8, 1966, p. 439; C.A., 67, 1967, p. 113532b (amide acide).
Schwartz, D. P., Brewington, R., Parks, D. W. Mikrochem. J. (U.S.A.), 8, 1964, p. 402 (dinitrofenilamine-serie omologă).
Dibello, C., Celon, E. J. Chromatog., 31, 1967, p. 77 (uree și derivați).
Grimmet, M. R., Richards, E. L. J. Chromatog., 18, 1965, p. 605 (imidazoli).
Pelko, J. R., Metcalfe, L. D. Anal. Chem., 37, 1965, p. 603 (amine terțiare alifatice).
Petrowitz, H. J. Chimia (Daran), 19, 1965, p. 426 (heterocicli cu azot).
Hashimoto, S., Sunamoto, J. Shinkai I. Kogyo Kagaku Zasshi, 68, 1965, p. 2510 (nitrocompuși aromatici+aminele corespunzătoare).
Deer, R. F., Alexander, C. S., Nagasawa, H. T., J. Chromatog., 21, 1966, p. 146 (aminopirine, pirimidine).
Gordon, J. E. J. Chromatog., 20, 1965, p. 38 (săruri de amoniu cu punct de topire coborît).
Gritter, R. J. J. Chromatog., 20, 1965, p. 416 (săruri de diazonium).
Preusmann, R. Neurath, G., Wulf, G., Lorenz en Daiber, D., Hengy, H. Z. Anal. Chem., 202, 1964, p. 187 (N-nitrozoderivați).
Fischbein, L. J. Chromatog., 27, 1967, p. 368 (izomeri holagenați și compuși nitro).
Komanova, E., Antos, K. Chem. Zvesti. Ceskosl., 20, 1966, p. 85. (izocianați).
Braun, D. Kunstoffe, 57, 1967, p. 821 (poliamide).
Hammond, J. E., Herbst, E. J. Anal. Biochem., 22, 1968, p. 474 (poliamide).
Schwarcz, J. Rev. arg. Grasas y Aceites, 8, 1966, p. 43. (derivații uretanici ai acizilor grași).
Guven, K. C., Hindal, A. Eczacilik Bulteni, 8, 1966, p. 202; C.A., 67, 1967, p. 5734k (acid *p*-aminobenzoic, pantocaină, novocaină, benzocaină).
Lauckner, J., Brauler, S., Fuerst, H. Chem. Tech. (Berlin), 19, 1967, p. 364; C.A.; 67, 1967, p. 96648z (polipiridină).
Cherbuliez, E., Behler, B., Espeja, O., Jindra, H., Wilholm, B., Rabinovitz, J. Helv. Chem. Acta, 50, 1967, p. 331 (arilaminotiazine și derivați).
Pinter, I., Kramer, M. Parfums. Cosmet. Savons., 10, 1967, p. 257; C.A., 67, 1967, p. 84758x (diamine aromatice).
Uhde, W. J., Spranger, D. Plaste-Kant., 13, 1966, p. 722 (amine terțiare).
Knizhnik, A. E. Pharm. Zh. (Kiew), 21, 1966, p. 30 (amine aromatice din preparate farmaceutice).

Scanned with OKEN Scanner

Fischbein, L. J. Chromatog., **26**, 1967, p. 522 (carbamaţi organici).
Mc Connell, Davis, T. W. J. Chromatog., **29**, 1967, p. 28 (carbamaţi organici).
Komanova, E., Kovac, J., Kurtosikova, A., Chem. Zvesti, **22**, 1968, p. 230 (derivaţi de nitrofuran).
Yasuda, K., Nakashima, K. Japan Analys, **17**, 1968, p. 732 (nitrozoderivaţi aromatici).
Beider, T. B., Botchkareva, T. P., Michaleva, E. S. Zavodsk. Lab., **34**, 1968, p. 540 (mono- şi trinitrotoluen din dinitrotoluen).
Roseira, A. N., Koerne, A., Sanches, S. Anais Assoc. Brasil Quim. **26**, 1967, p. 79; C.A., **69**, 1968, p. 64453g (2,6-dinitroclorbenzen din 2,4-dinitroclorbenzen tehnic).
Rai, R. K., Hutzinger, O. J. Chromatog., **44**, 1969, p. 199 (2,4-dinitrofeniltioderivaţi ai indolilor naturali).
Janssen, J. F. J. Chem. Educ., **46**, 1969, p. 117 (fotoizomerizarea azobenzenului).
Alvarado, F. H. J. Chromatog.. **42**, 1969, p. 144 (produşi de reacţie între *p*-clor (brom)-nitrobenzen şi metoxid de sodiu).
Groth, A. B., Wallerberg, G. Acta Chem. Scand. **20**, 1966, p. 2628 (reactivi specifici de determinare a aminelor terţiare).
Ratney, R. S. J. Chromatog., **26**, 1967, p. 299 (reactiv de determinare pentru amine aromatice).
Macke, G. F. J. Chromatog., **36**, 1968, p. 537. (reacţii de detectare pentru amine, fenoli).
Glover, D. J., Kayser, E. G. Anal. Chem., **40**, 1968, p. 2055 (reactiv de determinare a nitroderivaţilor aromatici).
Barney, J. E., Harvey, S. R., Hermann T. S. J. Chromatog., **45**, 1969, p. 82 (reactivi de identificare pentru amine primare, secundare şi terţiare).
Ross, J. H. Anal. Chem., **42**, 1970, p. 564 (reactivi de identificare pentru amine şi hidrocarburi aromatice).

11.9. Derivaţi cu sulf, fosfor, siliciu, halogeni, compuşi nesaturaţi, compuşi organometalici

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Mercaptani (*a*) tiofenoli (*b*)	Alumină impregnată cu 5% cetan (pentru compuşii *a*)	— ACOH 96%: AN (3:1)	Nitroprusiat de sodiu 3% (pentru compuşii *a*)	[1]
	Alumină activată (pentru compuşii *b*)	— EP (40—60°C)	Albastru de bromitol (pentru compuşii *b*)	

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Derivaţii tiofenolului: tiofeni nepolari (*a*); tiofeni cu polaritate medie (*b*); tiofeni foarte polari (*c*)	Alumină pentru compuşii *a*) Silicagel G (pentru compuşii *b*+*c*)	— EP (40—60°C) — C_6H_6: $CHCl_3$ (9:1) pentru compuşii *b*) MeOH (pentru compuşii *c*)	Lumină U.V. 245 nm apoi stropire cu izatină 0,4% în H_2SO_4 conc.	[2]
Sulf elementar din cauciuc vulcanizat (în prezenţa antioxidanţilor şi acceleratorilor)	Silicagel	C_7C_{16}	NaN_3 3% în sol. iod 0,1 N	[3]
Mercaptani în prezenţa altor grupe funcţionale cu sulf			Sol. iod (cu grupa sulfhidril se înălbesc la început şi numai după oxidare completă şi trecere la disulfură se înbrunează)	[4]
Sulfuri alifatice (*a*) şi aromatice (*b*)	Alumină impregnată cu 5% cetan	— $CHCl_3$: MeOH(1:3) (pentru *a*) — $CHCl_3$: MeOH:H_2O (5:15:1) pentru *b*)	$KMnO_4$	
Compuşi organici cu sulf de tipul R—S—H şi R—S—R	Alumină D, 90 min la 100°C Alumină: H_2O (1:1,25)	EP (40—60°C)		[5]
Derivaţi tiazolici substituiţi în poziţia 2 cu: clor, sulf. metil; —OH, —NH_2, —SH şi în poziţia 4 cu: fenil, bromfenil, *p*-clorfenil, metoxifenil, *p*-nitrofenil	Silicagel	1) C_7H_{16} 2) C_6H_6		[6]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Sulfonamide	Silicagel G	1) $CHCl_3$: MeOH: (9:1) 2) $CHCl_3$: MeOH: NH_4OH 25% (90:15:24)	$NaNO_2$ 1% în HCl 0,1 N, 5 min la 100°C, apoi stropire cu 0,2% α-naftol în NaOH 0,1 N	[7]
Arsensulfonamide și aminosulfonele lor izomere (derivați de N-fenilsulfonil și arilfenilsulfonil-*p*-fenilendiamine	Alumină, silicagel (impregnați cu un indicator de fluorescență)	AcOEt 20% în C_6H_6	1) Indicator de fluorescență 2) Ca atare după o zi (produși de oxidare)	[8]
Derivați cu sulf de la prepararea cicloralului: N-(*p*-toluensulfonil)-N′-ciclohexil-ureea, uree, *p*-toluensulfonamidă, *p*-toluensulfoniluree, hexilamină, 1-ciclohexil-3-(tolilsulfonil)-uree	Silicagel G	1) C_6H_6: MeOH (95+5) 2) $CHCl_3$: MeOH : T (100:20:30) 3) C_6H_6: MeOH (95:8) 4) MeOH (90:10)	1) DCF+lumină U.V., 20 min la 100°C 2) Amestec sulfocromic 3) Vanilină — H_2SO_4; 4) *p*-DABA	[9]
Compușii cu sulf de la prepararea mercaptobenztiazolului: mercaptobenztiazol, dimercaptobenztiazol, tiocarbanilidină-difeniluree benztiazol, rășini, sulf+derivați, anilinbenzdiazol, aminotiofenol, fenilizotiocianat	Silicagel G 30 g+ pulbere zinc, 1 g+55 ml H_2O 1 oră la 115°C Silicagel G	1) $CHCl_3$ 2) $CHCl_3$ C_6H_6(8:2) 3) C_6H_6: MeOH: AcOH (94:3:3)	1) Sol. I_2 1% în MeOH 2) Reactiv Dragendorff 3) *p*-DABA în HCl 4) $KMnO_4$— —Na_2CO_3	[10]
Acizi aminosulfonici și aminobenzensulfonici	Silicagel G	1) PrOH: NH_4OH (2:1)	1) $K_3[Fe(CN)_6]$: $FeCl_3$ (1:1)	[11]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		2) PrOH: NH_4OH (2:1) 3) *i*-PrOH: MEC: NH_4OH (4:2:3)	2) $NaNO_2$ 1% în HCl 1 N apoi stropire cu 0,5% β-naftol în KOH 1 N	
Acizi naftilamino-sulfonici	Celuloză MN-300 15 g+ +75 ml H_2O, 10 min la 105°C	BnOH : PrOH : H_2O : NH_4OH 25% (10:5:4:1)	Lumină U.V.	[12]
Acizi N-arilamino-nonaftalen-sulfonici (acizi I, di I, γ, Peri etc.	Silicagel G Alumină	1) BnOH: NH_4OH: H_2O (3:1:1) 2) *terț*-BnOH: NH_4OH : H_2O (5:1:0,5) 3) PrOH: NH_4OH 25% (2:1) 4) PrOH: NH_4OH: *terț*-BnOH	1) Ca atare 2) Diazotare 3) *p*-DABA 4) $K_3[Fe(CN)_6]$ $FeCl_3$	[13]
Acizi sulfonici diazotați izomeri (naftachinondiazide)	Alumină	H_2O:MeOH: NH_4OH 25% (2:2:1)	Rezocinol 10% și expunere la vapori de amoniac	[14]
Acizi naftalensulfonici (mono-, di-, tri, acid *p*-clorsulfonic, sulfone și izomerii lor)	Celuloză MN-300, Celuloză MN-300: Celită 530: Bolus: Leucht-pigment ZS-Super (10:3:1:1)+ +70 ml H_2O. Silicagel G+ +$HNaCO_3$ 5%, 10 min la 110°C sau uscare la aer 18 ore. Celuloză G-MN-300	– $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$ 30% – *i*-Pr-OH: EtOH: NH_4OH (100:20:8); – *i*-PrOH: NH_4OH *terț* BnOH (1:1:1) – BnOH:EtOH: NH_4OH: H_2O (80:20:4:16)	1) Pinacriptol gelb 0,05% în EtOH; 2) Verde de bromcrezol în EtOH 0,05%; 3) $KMnO_4$ alcalin, se pot face stropiri succesive cu acești reactivi	[15]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Acizi clortoluen-aminosulfonici	Silicagel G+ +$HNaCO_3$ 5%, 10 min la 110° sau uscare la aer 24 ore	1) PrOH: EtOH: NH_4OH (2:0,5:1) 2) PrOH: NH_4OH (2:1)	*p*-DABA	[16]
Acizi sulfocarbazolici (săruri de sodiu)	Silicagel G F_{254}, 2 ore la 135°C	AcOEt : MeOH: FOH : Py (75:7.5:7.5:10)		[17]
Compuşi organici cu fosfor (fosfiţi, fosfaţi, fosfenaţi+esterii sulfuraţi corespunzători): derivaţi ai fosforului (*a*); esteri fosforici, tiofosforici şi fosforoşi (*b*); acizi fosforici, fosforoşi, fosfinici, fosfonici (*c*)	Silicagel G Celuloză pulbere (Pleuger)	1) Me_2OCO; *terţ*-BnOH: H_2O:NH_4 conc. (5:4:1:1) pentru toţi derivaţii organici cu fosfor în special pentru *a*) 2) *terţ*-BnOH: AN : NH_4OH conc. (5:4:1) (pentru *c*, uşor hidrolizabili) 3) Me_2CO: H_2O:MeOH: acid trilor-acetic (75:25:10) (pentru *b*) 1) *i*-PrOH: NH_4OH conc. (75:25); 2) PrOH: NH_4OH conc H_2O (6:3:1)	Se stropeşte cu soluţie: 250 ml molibdat de amoniu sol. apoasă 4% +20 ml HC1 conc.+50 ml acid percloric 70%+ +680 ml H_2O, 10 min la 80°C (pentru celuloză) şi la 110°C pentru silicagel. Esteri sulfuraţi se detectează imediat iar ceilalţi estere sub curent de H_2S	[18]
Compuşi organici cu siliciu-polisiloxani	Silufol U.V. 254 nm (benzi cu silicagel şi amidon)	C_7H_{16} : CCl_4: T (6:1:1)	Pentru arilsiloxani (cu grupe fenil, fenoxi etc.) vapori de NO_3H	[19]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Compuşi organometalici (*n*-alchilzinc)	Silicagel HF_{245} silanizat 40 g + H_2O 60—80 ml, agitare 15 min, apoi uscare 1 oră la aer şi 1 oră la 120°C	1) HCl 2N : *i*-AmOH : *i*-Pr_2O : C_6H_{12} (2:6:2:1) 2) HCl 2N : TH : *i*-AmOH : 2-cloretanol EtOH (5:3:2:5) 3) HCl 2N : TH : *i*-AmOH : 2-cloretanol : C_6H_{12} (5:3:2:5:1)	1) Expunere la 10 min vapori Br_2 apoi stropire cu 0,1% bencatehiné-violet în EtOH. 2) AFM-10%, 15 min la 140°C	[20]
Chelaţi metalici	Silicagel F_{254}	1) PrOH : EtOH : NH_4OH (3:3:4) 2) PrOH : NH_4OH (7:3) 3) PrOH : EtOH : NH_4OH (3:3:4) 4) EtOH : NH_4OH : AcOH (70:30:2) 5) EtOH : NH_4OH (7:3)	Vapori de iod	[21]
Chelaţi metalici (dietilditiocarbamaţi, chelaţi de Bi, Cu, Ni, Co, Fe^{II}, Cr^{VII}, V^{V}, Mo^{VI}, U^{IV}	Silicagel	1) C_6H_6 : $CHCl_3$ (3:7) 2) C_6H_{12} : $CHCl_3$ (3:7)		[22]
Derivaţi organocobaltici	Celuloză Whatman CC 41 0,3 mm	1) *sec*-BnOH : H_2O (9,5:4)		[23]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		2) *sec*-BnOH: AcOH: H_2O (100:1:50) 3) *sec*-BnOH: NH_4OH: H_2O (95:0,765:4) 4) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:5)		
Compuşi organomercurici	Silicagel G	C_6H_{12}:Me_2CO (4:1)	1) $CuSO_4$ anhidru 20% în HCl 1 N 2) Soluţia din 5 g KI+20 g $Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$ în H_2O	[24]

Bibliografie

1. *Prinzler, H. W., Pape, D., Tauchman, H., Teppke, M.* Tzcharnke-Ropa C. Uhlic, 8, 1966, p. 25.
2. *Curtis, R. F., Phillips, G. T.* J. Chromatog., 9, 1962, p. 366.
3. *Davies, J. R., Thauraiserigham, St.* J. Chromatog., 35, 1968, p. 513.
4. *Brown, P. R., Edwards, J. O.* J. Chromatog., 38, 1968, p. 543.
5. *Prinzeer, H. W., Pape, D., Teppke, M.* J. Chromatog., 19, 1965, p. 375.
6. *Vernin, G., Metzer, J.* Chim. Annal. (Paris), 46, 1964, p. 487.
7. *Bican, T., Fister, E., Kojganovec, V.* J. Chromatog., 16, 1964, p. 503.
8. *Finley, K. T., Kaiser, R. S.* J. Chromatog., 39, 1969, p. 195.
9. *Johan, F., Gavăt, L.* Cromatografia produşilor rezultaţi la prepararea ciclo-ralului (lucrare nepublicată).
10. *Smorjevschi, M., Johan, F., Tatu, I.* Al 39-lea Congres Internaţional de Chimie industrială, Bucureşti, 1970, Bul., Congr. vol. II.
11. *Johan, F., Onaca, I., Korciova, C.* Cromatografia acizilor aminobenzensulfonici — produse intermediare din industria coloranţilor (lucrare nepublicată).
12. *Asmus, E., Schultzer, G.* Z. Analit. Chem., 217, 1966, p. 176.
13. *Johan, F., Mangu, P.* Cromatografia acizilor N-arilaminonaftalensulfonici — produse intermediare din industria coloranţilor (lucrare nepublicată).
14. *Volodarski, I. L., Kozlov, V. V.* Zh. Analit. Him., 23, 1968, p. 762.
15. *Johan, F., Smorjevschi, M., Tatu, I.* Cromatografia acizilor naftalensulfonici — produse intermediare de la prepararea α-naftolului (lucrare nepublicată).

Scanned with OKEN Scanner

16. *Johan, F., Sanielevici, H.* Cromatografia acizilor clortoluenaminosulfonici — produse intermediare din industria coloranților (lucrare nepublicată).
17. *Waksmundzki, A., Rozylo, J. K., Seilowicz, A.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 204.
18. *Lamotte, A., Merlin, J. C.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 296.
19. *Franc, J., Senkyrova, J.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 512.
20. *Figge, K.* J. Chromatog., **39**, 1970, p. 84.
21. *Swain, J. L., Sudmeier, J. L.* Anal. Chem., **40**, 1968, p. 418.
22. *Mitsuo Kiboku.* — Japan Analyst, **17**, 1968, p. 22.
23. *Firth, R. A., Hill, H. A. O.-Pratt, J. M., Thoro, R. G.* Anal. Biochem., **23**, 1968, p. 429.
24. *Johnson, G. W., Vickers, C.* Analyst **95**, 1970, p. 356.

Bibliografie suplimentară

Prinzler, H. W., Tauchmann, H. J. Chromatog., **29**, 1967, p. 151 (sulfoxizi organici, dinitrotioeteri).

De Deyne, V. J. R. J. Chromatog., **31**, 1967, p. 260 (acizi α-naftolmonosulfonici).

Rohr, M., Chiari, D. Mikrochim Acta, **1**, 1967, p. 137 (xantogenații alcoolilor inferiori).

Korte, F., Vogel, J. J. Chromatog., **9**, 1962, p. 38 (tiol-lactone, lactone, lactame).

Giao, W., Polonia, J. Anais Fac. Farm. Porto. **25**, 1965, p. 81; C.A., **66**, 1967, p. 118878 h (sulfonamide).

Vernin, G., Metzger, J. Bull. Soc. Chim. France, 1967, p. 846 (heterocicli tiazolici și benzotiazolici).

Sawicki, E., Engel, C. R., Elbert, W. C. Malasita **14**, 1967, p. 1169; C.A., **67**, 1967, p. 1135539 i (mercaptani, proline, precursori de radicali liberi).

Roseira, A. M. Anals. Assoc. Brasil. Chim., **24**, 1965, p. 43. (acizi sulfonici).

Reichel, J., Bader, B. Rev. de Chimie (Buc.), **11**, 1966, p. 1323, (acizi sulfonici).

Bayfield, R. F., Clarke, V., Cole, E. R. J. Chromatog., **26**, 1967, p. 132 (sulfoamide, sulfinamide).

Smith, P. J., Hermann, T. S. Anal. Biochem., **22**, 1968, p. 134 (benzotiazine).

Uhle, K., Z. Chem. C.A., **67**, 1967, p. 236, 1031 (silanoli, siloxoni, silani).

Prey, B., Berger, A., Berblak, H. Anal. Chem., **185**, 1962, p. 113 (compuși organici nesaturați).

Yukio Imai, Kaoru Yamauchi, Shigeru Terabe, Ryusei Konaka, Jitsuo Sugita. J. Chromatog., **36**, 1968, p. 545 (compuși organici cu halogeni).

Skelly, N. E., Kamake, K. A. Anal. Chem., **39**, 1967, p. 1009 (salicilanilide bromurate-bactericide).

Rink, J. M., Lenhard, R., Jäger, H. J. Chromatog., **29**, 1967, p. 396. (*n*-alchil-halogenuri (serii omologe).

Helberg, D. Deut. Lebensm. Rundschau, **63**, 1967, p. 69. (compuși dialchilorganostanici).

Braun, D., Heims, H. T. Z. Anal. Chem., **239**, 1968, p. 6 (compuși organizincați).

Scanned with OKEN Scanner

11.10. Lipide

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Lipide din ser şi lichid amniotic (separarea pe clase): fosfolipide, monogliceride, colesterol, digliceride, acizi graşi liberi, trigliceride, colesteril-esteri şi hidrocarburi	Silicagel G spălat cu faza mobilă 1	1) Et_2O: C_6H_6: EtOH: AcOH (200:250: 10:1) migrare pe 6,5 cm apoi cu 2) EP:Et_2O: AcOH (90:10:1), migrare pe 13 cm	H_2SO_4 50% la 260°C	[1]
Materii grase saponificabile şi nesaponificabile	Alumină	C_6H_6:Me_2CO (95:5)		[2]
Trigliceride sintetice şi naturale (din uleiuri vegetale)	Kieselgur+ UP	— Me_2CO: AN(7:4) saturat cu UP, repetat de 3 ori pentru gliceride naturale	1) DCF şi lumină U.V.	[3]
	Kieselgur+ +5% TD	— Me_2CO: AN(4:1) (pentru trigliceride sintetice şi unele naturale)		
	Silicagel+ +$AgNO_3$	— C_6H_6: Et_2O(4:1) (pentru trigliceride naturale din uleiuri vegetale)		

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Silicagel+ US (1,5 c.p.)	— MeOH: AN:propionitril (5:4:1,5) (saturat cu impregnant pentru trigliceride din uleiuri vegetale)		
	Silicagel+TF	— Me_2CO: AN(4:1) (saturat 80% cu TD; pentru trigliceride saturate) — Me_2CO: AN(4:1) (saturat 80% cu UP, repetat de 3 ori pentru trigliceride nesaturate)	2) Iod apoi α-ciclodextrină (pentru trigliceride nesaturate)	
Trigliceride nesaturate	Silicagel+ 20% $AgNo_3$	— CCl_4: $CHCl_3$: AcOH (60:40:0,5) (cantități mici de EtOH după tipul de gliceridă analizată) — EtOH 0,4% pentru 3 duble legături		[4]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Trigliceride nesaturate	Silicagel G 30 g+$AgNO_3$ 12,5% 60 ml (0,3 mm)	1) Ciclooctenă cu: 0;2;5;10; 15;40;50; 60;70;80; C_6H_6 90;100% 2) Ciclohexenă cu C_6H_6 (ca la 1)	Uscare la 60°C și apoi stropire cu 0,01% DCF în MeOH (365 nm)	[5]
Lipide (compuși cu azot: gliceride, acizi grași nitrili și alți compuși, amide, amine	Silicagel G	1) EP:Et_2O: AcOH (9:10:1) 2) i-Pr_2O+ +1,5% AcOH		[6]
Mono-, di-, trigliceride nesaturate+acizi nesaturați din ulei de ricin	Silicagel G	1) EP:Et_2O: $CHCl_3$: AcOH (100:40: 40:4) 2) C_6H_6: MeOH: AcOH (90:4:4)	1) AFM la 120°C 2) 2,7-DCF, lumină U.V. apoi expunere la vapori de brom și lumină U.V. 3) Amestec fluoresceinat de sodiu: DCF (1:1) și apoi expunere la vapori de brom și lumină U.V. 4) Verde bromcrezol (pentru diferiți acizi-esteri)	[7]
Lipide (alchil oleați oxidați)	Silicagel A, 20 min la 105°C	C_7H_{16}:Et_2O: AcOH (80:20:1)	6% AFM la 115°C	[8]
Derivați sintetici industriali ai acizilor grași: amine primare acetilate, amine secundare, ami-	Silicagel G	Tehnica în trepte: 1) EP (60—70°C): C_6H_6 (95:5)		[9]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
ne terțiare, săruri cuaternare de amoniu, izocianați, agenți activi de suprafață, tiocianați, mercaptani, alchilfenoli, alchilnitrili	Silicagel G 25 g+ sulfat de amoniu 10% 2,5 g+ +60 ml H_2O	2) C_6H_6: NH_4OH (100:10) strat superior la 20°C sau 1) $CHCl_3$ saturat cu NH_4OH (10:1); stratul inferior: MeOH (97:3) 2) $CHCl_3$: MeOH (în diferite proporții) +5% H_2SO_4 0,1 N (după polaritatea compușilor); pentru alchilsulfați, alchilsulfonați, alchilfosfați, alchilfosfonați		
Epoxi-lipide	Silicagel	Et_2O:C_6H_{14} (1:1)	H_2SO_4 la cald	[10]
Ceruri naturale (separare în clase): *n*-alcani, *n*-alchene, *n*-alchilesteri, *n*-alchilcetone, *sec*-alcooli, *n*-alcooli primari, *n*-acizi grași saturați, *n*-acizi grași	Silicagel G	1) CCl_4 2) CH_2Cl_2 3) C_6H_6: $CHCl_3$ (7:3) 4) $CHCl_3$: AcO Et (1:1)	*Metode generale* 1) H_2SO_4 conc. la 120°C; 2) 2,7-DCF 0,1% în EtOH+ lumină U.V.; 3) Rodamină B 0,05% în EtOH+lumină U.V.;	[11]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
mononesaturați, hidroxiacizi, dioli, steroli, esteri-steroli, triterpenoide, triteroenoidin-esteri			4) α-Ciclo-dextrină 1% în EtOH 30%, uscat și restropit cu iod 1% în EP; 5) $SbCl_3$ în $CHCl_3$ la 120°C. *Reactivi specifici* 1) fluoresceinat de sodiu+expunere la vapori Br_2 (pentru nesaturate); 2) 0,5% 2,4-DNFH în EtOH+ +1 ml HCl 25% (pentru compușii carbonilici); 3) vanilină 3% în EtOH+0,5 ml H_2SO_4 conc. la 120°C (pentru alcooli superiori+cetone); 4) Test Lichbeimenn-Burchard: a) anhidridă acetică+ $CHCl_3$ (1:1); b) reactivi Lichbeimenn-Burchard; c) H_2SO_4 conc., imediat la 120°C (pentru steroli+triterpenoide; 5) Acid clorosulfonic+ acid acetic (1:2)+lumină U.V.;	

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			6) Indicator universal sau alți indicatori de pH, 0,1% în EtOH (pentru acizi); 7) BF_3 în MeOH sau vanilină (pentru grupa -COOH, -OH, C=O)	
Lipide din săpunuri (saponificabile+nesaponificabile)	Silicagel G, 2 ore la 110°C	EP:Et_2O:AcO (8:2:1)	H_2SO_4 60% 1,5 ore la 130°C	[12]
Lipide (reactivi de identificare)	Silicagel cu 16% gips	C_6H_{14}:Me_2CO (9:1)	1) Tinopal CH 3566 0,5% sau tinopal LCS în EtOH și expunere la lumină U.V.; 2) Rodamină B 15—40 mg se adaugă la 1 g de tinopal soluție (mai bun)	[13]
Lipide: mono-, di-, trigliceride, acizi grași liberi, colesterol, esteri colesterolici, fosfolipide	Silicagel Whatman SG4 sau Merck, 45 min la 60°C apoi spălare de 2 ori cu Et_2O apoi uscare la 60°C	Tehnica în 2 trepte: 1) Et_2O: EP (40—60°C): AcOH (65:35:0,5) (migrare 6 cm) apoi uscare 15 min la 60°C (pentru lipide mai polare) 2) Et_2O: EP (40—60°C) (6:94)		[14]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		(pentru separarea lipidelor mai puțin polare)		
Lipide naturale (produși de saponificare*): alcool oleic, acid oleic, colesterol, tetradecandiol-1,2, hexadecandiol-1,2	Silicagel G	Bidimensional a) C_6H_{14}: Et_2O: AcOH (20:30:1); b) Et_2O sau C_6H_{14}: Et_2O (2:8) saturat cu 1 mol NH_4OH	H_2SO_4 la 170°C	[15]
Cerebrozide	Silicagel G	$CHCl_3$: MeOH: NH_4OH conc.: H_2O (48:14:1:1)	Albastru de bromtimol alcalin și apoi cu H_2SO_4 la 150°C	[16]
Lipide: esteri fenilici ai acizilor grași (a); alchilfenoli (b); hidroxifenilalchilcetone (c)	Silicagel G (EM)+5% US în Et_2O	1) EP (40—60°C): Et_2O: AcOH (90:10:0,5) (pentru compușii $a+b+c$) 2) AcOH: H_2O (8:2) (pentru compușii $a+b$ AN:AcOH: H_2O (7:1:2) pentru compusii a)	Acid cromic 2 ore la 120°C.	[17]

*) Saponificare: KOH 10% la 70°C în amestec cu MeOH:H_2O:T (10:1:1), acidificare, apoi tratare cu HCl 2N și extras de 3 ori cu Et_2O, evaporare și dizolvare în $CHCl_3$.

Bibliografie

1. *Biezenski, J. J., Fomerance, W., Goodman, J.* J. Chromatog., 38, 1968, p. 148.
2. *Wolf J. P.* Chimie anal., 50, 1968, p. 18.
3. *Kaufmann, H. P., Wessels, H.* Fette, Seiffen, Anstrichm. 66, 1964, p. 81.

Scanned with OKEN Scanner

4. *Barett, E. B., Dallas, M. S. J., Paeiky, E. B.* Chem. Ind. (London), 1962, 1050.
5. *Thornburn, D., Burns, Stretton, R. J. Shepherd, G. F. J.* Chromatog., **44**, 1969, p. 399.
6. *Kelly, M.* J. Chromatog., **15**, 1964, p. 264.
7. *Johan, F., Onaca, I.* C.S.S. a mono-, di- și triglicéridelor și acizilor grași nesaturați din ulei de ricin (lucrare nepublicată).
8. *Pokorny, J., Hlodik, J.* J. Chromatog., **33**, 1968, p. 267.
9. *Mangold, H. K., Kanmereck, R.* J.A.O.C.S., **39**, 1962, p. 201.
10. *Vioque, E.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 235.
11. *Holloway, P. Y., Challen, S. B.* J. Chromatog., **25**, 1966, p. 336.
12. *Popov, A., Cobanov, D., Stefanov, K.* Seifen Öle Fette. Wachs, **5**, 1968, 107.
13. *Popov, A. D., Stefanov, K. L.* J. Chromatog., **37**, 1968, p. 533.
14. *Manners, M. J., Kidder, D. E., Parsons, P. M.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 276.
15. *Strocchi, A., Piretii, M.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 181.
16. *Coles, E., Foote, J. L.* J. Chromatog., **39**, 1969, p. 229.
17. *Hemalatha Isaiah, N., Subbarao, R., Aggarwal, J. S.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 519.

Bibliografie suplimentară

Galanos, D. S., Kapoulas, V. M., Vandouris, E. C. J. Am. Oil Chem. Soc., **45**, 1968, p. 825 (trigliceride nesaturate din ulei).
Zollner, Z., Wolfram, G. Khim. Wochscj., **40**, 1962, p. 1100 (lipide din plasmă).
Vogel, W. C., Doizoki, W. M., Ziene, L. J. Lipid. Research, **3**, 1962, p. 138 (lipide neutre din ser).
Bandyopadhgay, C. J. Chromatog., **37**, 1968, p. 123 (gliceride saturate din grăsimi).
Fioriti, A., Sims, R. J. J. Chromatog., **32**, 1968, p. 761 (epoxizi ai acizilor grași).
Viswanathan, C. V., Phillips, F., Lundberg, W. O. J. Chromatog., **38**, 1968, p. 267 (alchenil, acil, alchilacil, diacilcolinfosfatide).
Doconing, D. T. J. Chromatog., **38**, 1968, p. 91 (lipide neutre).
Mani, V. V. S., Lakshminarayan, G. Chromatog. Rev., **10**, 1968, p. 159, (lipide din uleiuri și grăsimi).
Rentner, F. Fette, Seifen, Anstrichmitt., **70**, 1968, p. 162 (ceruri).
Vismanathan, C. V., Chromatog. Rev., **11**, 1969, p 153 (lipide).
Roehm, J. N., Privett, O. S. J. Lipid. Res., **10**, 1969, p. 245 (duble legături din esterii acizilor grași nesaturați).
Srivastava, K. C., Rastogi, S. C. Z. Anal. Chem., **244**, 1969, p. 189 (fosfolipide).
Karleskind, H. Chimie Analitique, **50**, 1968, p. 223 (nesaponificabile).
Wolff, J. P. Chimie Analytique, **50**, 1968, p. 18 (lipide).
Chakrabarty, M. M., Bhattacharya, D., Gayen, A. K., J. Chromatog. **44**, 1969, p. 116 (gliceride din unt).
Fewster, M. E., Burns, B. J., Mead, J. F. J. Chromatog., **43**, 1969, p. 120 (glico+fosfolipide, colesterol, esteri colesterolici, acizi grași, gliceride).
Douglas, A. G., Powell, T. G. J. Chromatog., **43**, 1969, p. 241. (gliceride, acizi grași).

Scanned with OKEN Scanner

11.11. Polimeri, răşini, adezivi

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Acid polimetilen-2-hidroxibenzoic	Silicagel H (0.750 mm), 1 oră la 110°C	C_6H_6: AcOH: H_2O (2:2:1) (strat superior)	Lumină U.V.	[1]
Oligomeri de etilenglicol (distribuţia masei moleculare)	Silicagel G (20—40 μ m), 1 1/2 oră la 180°C	1) Butanonă 2) Butanonă: H_2O (95:5) 3) idem (90:10) 4) Butanonă saturată cu apă.	Vapori de iod	[2]
Produşi de condensare între acidul naftalensulfonic, dihidroxifenilsulfonă şi formaldehidă (tananţi sintetici)	Silicagel F	1) BnOH: AcOH: H_2O (4:1:5) 2) BnOH: EtOH: NH_4OH: H_2O (75:10:15:10)	1) Lumină U.V. 2) *p*NBDF 3) Pinacriptol gelb şi apoi lumină U.V.	[3]
Răşini fenol-formaldehidice, cardanol formaldehidice în mediu alcalin (40% KOH)	Silicagel G activat 2 ore la 100°C	AcOEt:T (6:4)	Acid sulfanilic diazotat	[4]
Răşini *p*-crezol-formaldehidice de tip novolac	Silicagel G	1) C_6H_6: MeOH: AcOH (95:2,5:2,5)	$SbCl_5$ 20% în CCl_4, la 100°C 10 min	[5]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		2) C_6H_6: MeOH (75:25) 3) $CHCl_3$: MeOH (96:4) 4) $CHCl_3$: MeOH:H_2O (95:4:1)		
Rășini epoxidice pe bază de epiclorhidrină și 2,2 bis-(4-hidroxilfenil)-propan (DFP); rășini epoxi cu masă moleculară mică (greutate echivalentă epoxi 186); rășini epoxi cu masă moleculară medie (greutate echivalentă epoxi 500); rășini epoxi cu greutate echivalentă epoxi 900; compuși cu clor, cu grupe epoxi, alcoolice, fenolice, epoxi-clor, epoxi-OH alcoolic, epoxi-OH fenolic, clor-OH fenolic, clor-OH alcoolic, fracțiuni cu diferite mase moleculare.	Silicagel G	1) C_6H_6: MeOH: AcOH (93:5:2). Separări bune se obțin prin migrare repetată în aceeași fază mobilă. 2) C_6H_5: MeOH: AcOH (94:2:4) 3) Bidimensional a) $CHCl_3$ b) C_6H_6: MeOH: AcOH (95:5:2)	1) *p*-Fenilendiamină 10,5% în EtOH:AcOH (2:1), 10 min la 100°C (specific pentru epoxi) 2) Vanilină 1,5% în EtOH abs. +0,25 ml H_2SO_4 (5 min la 80°C pentru grupa carbonil și 15 min la 120°C pentru toți compușii) 3) $AgNO_3$ 0,1 N: NaOH 2N:(2:1) NH_4 OH 5N adăugat cu picătura pînă la dizolvarea precipitatului format, 30—60 min la 120°C (pentru compușii reducători și pentru produsele clorurate) 4) Sol. iod 1% în MeOH. 5) $KMnO_4$ 1%: Na_2CO_3 1% (1:1)	[6—8]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			6) Acid sulfanilic diazotat (pentru fenoli) 7) Fericianură de potasiu: $FeCl_3$ 2:1 (pentru produşii reducători)	v. tabel 11.8 [14]
Răşini epoxi de tip novolac şi epiclorhidrină — DFP	Silicagel G	$CHCl_3$		[9]
Răşini epoxi de tip novolac (*a*) şi epiclorhidrină — DFP (*b*) (C.S.S.+spectroscopie IR sau combinarea C.S.S. cu cromatografia prin filtrare pe gel şi spectroscopia IR, pentru determinarea distribuţiei masei moleculare)	Silicagel G (0,5 mm)	1) C_6H_6: AcOEt (8:2) (pentru *b*) 2) EP: Me_2CO: $CHCl_3$ (8:1:1) 3) Idem (7: 2:1) [2] şi 3) pentru *a*) prin migrare repetată de 4 ori] 4) $CHCl_3$:Et_2O (9:1) (pentru *a*)	1) 50 g NaBr+ 2,5 g bromcrezol purpur+50 ml alcool benzilic+125 ml H_2O+375 ml EtOH+4 ml NaOH N. 2) Anisaldehidă 5%+H_2SO_4 5% în EtOH 3) 2,4-Diclorbenzaldehidă 5%+H_2SO_4 5% în EtOH, la 100°C 10 min	[10—11]
Răşini poliesterice de tip glicoli- sau polioliadipaţi	Silicagel G Alumină G	1) MEC:C_6H_{14} (1:2) 2) MEC:C_6H_{14} (1:1) 3) $CHCl_3$: Me_2CO: NH_4OH 5N (1:8:1) 4) $CHCl_3$: T:AcOH (62:14:5)	1) Sol. de iod 1% în MeOH; 2) Reactiv Dragendorff peste 1) 3) $KMnO_4$	[12]

1	2	3	4	5
		5) $BnOH:H_2O$ (9:1) (3,4,5 pentru compuşii glicolici		
Poliesteri, polietilentereftalat oligomeri	Silicagel G	1) C_6H_6: AcOEt (85:15) 2) C_6H_6: AcOEt (55:45) 3) AcOEt	Roşu metil 0,2 g+albastru bromtimol 0,2 g+CH_2O 100 ml+EtOH 400 ml	[13]
Adeziv-alcool polivinilic	Silicagel G Kieselguhr+ amidon	$PrOH:H_2O$ Acid percloric 30%	Amestec H_3BO_3 şi iod	[14]
Răşini ureo şi melaminformaldehidice	Silicagel G	MeOH:AcOEt (7:3) în atmosferă de amoniac	*p*-DABA	[15]
Compuşi cu grupa metilendioxi rezultaţi la condensarea CH_2O cu compuşii hidroxifenolici	Silicagel—HR(MN) 25 g +cromotropat de sodiu 1 g în 49,5 ml H_2O +0,5 ml H_2SO_4, 1 oră la 90°C	1) C_6H_6:EP (1:1) 2) C_6H_6:MeOH (99:1) 3) C_6H_6: Me_2CO (98:2)	1) 1,8-Dihidroxinaftalen-3,6-disulfonat de sodiu 1 g în 15 ml H_2O+ 15 ml H_2SO_4 conc., 30 min la 120°C, soluţie stabilă o săptămînă, specific pentru CH_2O rezultat la hidroliză	[16]
Compuşi metilenici rezultaţi la condensarea CH_2O cu hidroxi- sau aminocompuşi	Silicagel G Silicagel G+ acid oxalic 0,5 N; Silicagel G+ borax 0,5 M Alumină neutră (Woelm) acidă şi bazică	1) C_6H_6: Xilen (75:25) 2) C_6H_5:T (1:1) Toluen 1) $CHCl_3$: xilen (4:1) 2) Toluen 3) C_6H_6	Fluoresceină 0,1% şi expunere la lumină UV 254 nm	[17

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Silicagel G: kiselgur G (1:1)	1) Xilen 2) Toluen 3) T : Xilen (1:1)		
Aminorăşini (derivaţi de uree, melamină, benzoguanamină)	Celuloză	BnOH:EtOH: :H_2O (3:1:1)	Soluţie $K_3[Fe(CN)_6]$ 10%· $Na_2Fe(CN)_6NO$· ·$2H_2O$ 10%: NaOH 10%: H_2O (1:1:1:3)	[18]
Compuşi cu masă moleculară mare-dextrani (cromatografie prin gelfiltrare)	Agar 4% sau agaroză perle 0,4—0,5 mm (100—400 mesh)	Tampon NaCl 0,1 M; *p*H 7		[19]
Polietilenglicoli şi polipropilenglicoli (derivaţi de 3,5 — DNB)	Silicagel G	1) $CHCl_3$: MeOH (85:15) (pentru poliglicoli) 2) AcOEt:AcOH (97,5:2,5) (pentru 3,5-DNB) 3) MEC saturat cu H_2O (pentru 3,5-DNB ai polietilenglicolilor)	1) $KMnO_4$ 2% în H_2SO_4 2N (pentru poliglicoli) 2) Rodamină B 0,05% în EtOH (pentru 3,5 DNB)	[20]

Bibliografie

1. *Ciampa, G., Grieco, C., Silipo, C.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 132.
2. *Favretto, L., Petroldi-Marletta, G., Favretto, L. G.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 255.
3. *Aurenge, J., Gelpi, L.* J. Chromatog., **34**, 1968, p. 186.
4. *Challens, S. B., Kucera, M.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 53.
5. *Haub, H. G., Kämmerar, H.* J. Chromatog., **11**, 1963, p. 487.
6. *Stoenescu, F., Johan, F., Onaca, I.* (Nota I). Rev. Mase Plastice **5**, 1968, p. 9.

Scanned with OKEN Scanner

7. *Stoenescu, F., Johan, F., Onaca, I.* Rev. Mase Plastice, nota II. **VII**, 1970, p. 288
8. *Johan, F., Onaca, I., Stoenescu, F.* Metodă de C.S.S. calitativă și cantitativă pentru determinarea compușilor rezultați la formarea rășinilor epoxi. Conferința Națională de Chimie Analitică. Brașov 22—26 sept. 1971.
9. *Weatherhead, R.* Analyst, **91**, 1966, p. 445.
10. *Spell, H., Eddy, R.* Ann. Chem. Soc. Div. Org. Coatings, Plastics. Chem. Pre print. **24**, 1964, p. 267; C.A., **64**, 1966, p. 2887s.
11. *Miles, B., Spell, H.* Reinforced Plastics Div. Roth-Chicago, **7 A**, 1965; C.A., **63**, 1965, p. 3114b.
12. *Johan F.* C.S.S. a glicolilor, acizilor și rășinilor poliesterice (lucrare nepublicată).
13. *Dorman, V. A. Smith*, J. Chromatog., **29**, 1967, p. 265.
14. *Ishikawa, S., Vamaskita, K.* Japan Analyst, **15**, 1966, p. 156.
15. *Chéne, M., Morel, D., Dubocergeal, M.* Papeterie, **87**, 1965, p. 264, C.A., **67**, p. 823.
16. *Cunner, S. W., Hand, T. B.* J. Chromatog.. **37**, 1968, p. 357.
17. *Vernea, K. K.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 276.
18. *Willems, J. H.* J. Verkronick, **42**, 1969, p. 53.
19. *Ulrych, S., Holdova, J.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 268.
20. *Salvage, T.* Analyst, **95**, 1970, p. 363.

Bibliografie suplimentară

Knappe, E. Farbe Lack, **75**, 1969, p. 36 (rășini poliesterice, aminorășini).
Kabayashi, Y. J. Chromatog., **24**, 1966, p. 447 (caprolactamă și oligomeri biciclici).
Sorkin, M. Textilveredlung, **2**, 1967, p. 487 (rășini utilizate în industria textilă si a vopselelor).
Iwakura, Y., Hayashi, K., Ivalak, K. Macromol. Chem., **104**, 1967, p. 46; C.A., **67**, 1967, p. 53602p (oligouretani-dimeri cu C asimetric în catena principală).
Buerger, K. Z. Anal. Chem., **224**, 1967, p. 421 (polietilenglicol).
Dawies, O. A. L. Transplantation, **5**, 1967, p. 31.
Davies, J. R. J. Chromatog.. **28**, 1967, p. 451.
Schoellner, R., Hellwing, J. Fette, Seifen. Anstr. Mittel, **70**, 1968, p. 770 (poliesteri-oligomeri ai acidului acrilic, acrilonitril și diol — dicarboxilat).
Ghosh, P. K., Saha, A. N. Indian J. Technol., **5**, 1967, p. 301; C.A., **68**, 1968, p. 114199f (produși de reacție fenol-acetonă).
Braun, D., Mai, E. Kunststoffe, 58, 1968, p. 637 (poliuretani).
Ninagawa, A., Imoto, M. Makromol Chem., **116**, 1968, p. 270; C.A., **69**, 1968, p. 67038m (rășini formaldehidice cu difenileter).
Volk, G., Schliefer, K., Klippel, F. Melliand Textilber, **49**, 1968, p. 92; C.A., **68**, 1968, p. 40984e (rășini aminoformaldehidice cu S etc.).
Braun, D., Varendohre, G. Kunststoffe, **57**, 1967, p. 821; C.A., **68**, 1968, p. 22270u (poliamide).
Baldesberger, A., Trefzer, K. Kunststoffe-Plastics, **14**, 1967, p. 201; C.A., **68**, 1968, p. 40627v (rășini epoxi).
Bryk, M. T., Shevolyakov, A. S., Kresub, O. B. Vysokomolekul. Soedin. Ser. B. **10**, 1968, p. 893; C.A., **70**, 1969, p. 47899k (oligomeri de izopren).
Groebel, W. Z. Lebensm. Untersuch. Forsch., **137**, 1968, p. 7 (polivinilidenclorură-polimeri).

Scanned with OKEN Scanner

Inagaki, H., Matsuda, H. Kamyama, F. Macromolecules, nr. **1**, 1968, p. 520; C.A., **70**, 1969, p. 29322n (copolimeri stiren-acrilat).
Braun, D. Mixdorf, G. Gummi Asbest Kunststoffe, **22**, 1969, p. 183; C.A., **70**, 1969, p. 97210z (polimeri stiren-α-metilstiren).
Janssen, R., Deyne, V. Vetters, A. Makromol. Chem., **123**, 1969, p. 119; C.A., **70**, 1969, p. 115581c (dietilenglicol din polietilentereftalat).

11.12. Coloranți

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Coloranți aminoantrachinonici	Alumină fără liant	C_6H_{14}:Me_2CO (3:1)	*p*-DABA	[1]
Coloranți antrachinonici: 1,4-diaminoantrachinona, leuco-diaminoantrachinona, chinizarina, leucochinizarina, 1-aminoantrachinona	Silicagel G +0,1 N H_3BO_3; Alumină G	1) TH:T (4:3); 2) Idem (2:1); 3) Idem (3:1); 4) Idem (5:3); 5) Idem (8:3); 6) TH:AcOEt:T (4:2:3); 7) Idem (3:1:1); 8) TH:$CHCl_3$:AcOEt (1:1:1) — $CHCl_3$		[2]
Coloranți aminoantrachinonici	Alumină G	Toluen		[3]
Coloranți de dispersie aminonitroantrachinonici	Silicagel HF	AcOEt:NH_4OH 25% (10:1)		[4]
Coloranți de dispersie aminohalogenoantrachinonici	Silicagel G	T:TH:AcOH (95:10:5)		[5]
Coloranți amino- și nitroantrachinonici de tip „Esterofil“	Silicagel G (spălat cu faza mobilă) Silicagel HF	— C_6H_6:Me_2CO (8:2) — AcOEt: NH_4OH 25% (10:1)		[6]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Coloranți azoici (pigmenți)	Silicagel G	1) 1,2-Dicloretan 2) 1,1,2-Tricloretan		[7]
Coloranți azoici	Silicagel G	1) EP (40—60°C): Et_2O:EtOH abs. (10:10:1) 2) BnOH:EtOH abs.: NH_4OH 2N (3:1:1) 3) *i*-Pr-OH: MEC:NH_4OH conc. (4:3:3)		[8]
Coloranți azoici, complecși cu crom și cobalt (reactivi)	Alumină G (Fluka)	PrOH:NH_4OH: *terț* BnOH (1:1:1)		[9]
Coloranți azoici de dispersie: dihidroxi, acetilo, cianoanilină (produși intermediari)	Silicagel G	$CHCl_3$:MeOH: C_6H_6:EtOH (88:4,5:4,5:6)	$K_3[Fe(CN)_6]$ -$FeCl_3$	[10]
Pigmenți azotriazinici	Silicagel G	1) *i*-PrOH: NH_4OH (2:1) 2) *i*-PrOH: NH_4OH (4:1)		[11]
Coloranți diazo-triazinici-mono- și bireactivi de tip Procion și Cibacron	Alumină G	1) PrOH—NH_4OH: *terț*-BnOH (1:1:1) 2) PrOH:NH_4OH (2:1) 3) EtOH:AcOBn: AcOEt: H_2O:Py (2:7:1:4:1)		[12]
Pigmenți amino-diazotriazolici (pe bază de 2-amino-6-metoxibenztiazol și difenilamină)	Silicagel G	1) MEC:AcOH: $CHCl_3$ (1:1:1) 2) MEC:$CHCl_3$: MeOH (1:1:0,5)	1) Reactiv Dragendorff 2) *p*-DABA 3) $K_3[Fe(CN)_6]$ $FeCl_3$	[13]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Coloranți azoici pe bază de acizi diaminobenzensulfonici și β-naftol	Silicagel G	1) PrOH:NH_4OH (3:1) 2) PrOH:NH_4OH (2:1) 3) i-PrOH:MEC:NH_4OH (4:2:3) 4) BnOH:EtOH:NH_4OH (6:2:2)		[14]
Pigment de tip „Lackrot C" (Acizi cloramino-toluen sulfonici-produși intermediari)	Silicagel G cu $NaHCO_3$ 5%, uscare 24 ore la aer	PrOH:EtOH:NH_4OH (2:0,5:1)		[15]
Coloranți acizi și bazici hidrosolubili	Silicagel G	BnOH:AcOH:H_2O (2:1:5)		[16]
Coloranți bazici pentru fibre poliacrilonitrilice	Alumină neutră Silicagel	EtOH:H_2O (5:2) Py:H_2O (1:2)		[17]
Coloranți de dispersie: tetraclorfluoresceină, floxin, roz Bengal	Celuloză (5% gips): Dowex 1×2 (1:1)	AcOH:MeOH:Me_2CO		[18]
Coloranți pe bază de aminoazobenben	Silicagel G (benzi Eastman nr. 6061) 0,1 mm	C_6H_6:H_7H_{16} (2:1) (în camera Sandwich)	Expunere la vapori de HCl și lumină U.V.	[19]
Coloranți reactivi-vinilsulfonici (Remazol)	Silicagel G	1) AcOBn:Py:H_2O (2:2:1) 2) AcOBn:AcOH:H_2O (2:2:1)		[20]
Pigmenți pentru cerneluri	Silicagel G	BnOH:EtOH:H_2O (10:2:3)		[21]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Coloranţi liposolubili	Silicagel G: acid oxalic 0,5N (1:2,5)	1) EP 2) Hexan		[22]
Coloranţi cosmetici (din rujuri)	Silicagel G Adsorbosil 1	1) C_6H_6:MeOH: NH_4OH (65:30:4) 2) C_6H_6:AmOH: HCl conc. (65:30:5) 3) C_6H_6:PrOH: NH_4OH (6:3:1)		[23]
Coloranţi indicatori de pH	Silicagel G: Alumină G	AcOEt:MeOH: NH_4OH 5N (6:3:1)		[24]
Coloranţi xantenici pentru histologie	Silicagel G Celuloză fosforilată activată+tampon veronal	— $CHCl_3$:Me_2CO: *i*-PrOH:H_2SO_3 (5—6% SO_2) (3:4:2:1) — PrOH:FOH (8:2) — Na CH_3COO 75%:HCl 1%: MeOH (4:1:4) — Tampon $NaCH_3COO$: EtOH (5:3)		[25]
Înălbitori optici, derivaţi de stilben (produşi de oxidare)	Silicagel G	1) PrOH: 5% $NaHCO_3$ (2:1) 2) BnOH:Py:H_2O (1:1:1) 3) BnOH:Py: NH_4OH (1:1:1)		[26]
Coloranţi galbeni (*a*) şi roşii (*b*) alimentari	Poliamidă 10—20 g +FOH 90% 80 ml+H_2O, 20 ml+kieselgur G 40 g 3 ore la aer şi 30 min la 100°C (pentru *a*)	1) MeOH: Me_2CO:H_2O: $NaCH_3COO$ 30%:EDA (10:10:20:5)		[27—28]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Kieselgur G 45 g+H_2O 10 ml (pentru *b*)	2) EtOH:H_2O: Et_2O: NH_4Cl 5%: EDA (15:15:10: 5:2)		
Coloranți albaștri alimentari (VRS+Patent-blau)	Silicagel G, 2 ore la 105°C Celuloză CC 41, 10 min la aer	— *i*-PrOH: NH_4OH conc. (4:1) — *i*-BnOH: H_2O:EtOH: NH_4OH conc. (25:25: 50:2)		[29]
Coloranți alimentari (determinarea masei moleculare — CGFSS)	Sefadex LH — 20	DMF		[30]
Uro-porfirine (izomeri)	Silicagel G	2,6-Lutidină: H_2O (5:3) saturat cu NH_4OH		[31]
Clorofile și carotenoide (pigmenți)	Alumină	C_6H_6:C_6H_{12}: Me_2CO:MeOH (25:25:3:1)		[32]
Antocianidine (pigmenți)	Avicel SF 20 g+H_2O 80 ml, 3 ore la aer	1) AcOH: HCl:H_2O (30:3:10) 2) FOH:HCl 4N (2:1) 3) MeOH:HCl conc: H_2O (190:1:10) 4) *țert*-BnOH: HCl2N:AcOH: H_2O (6:1:1:2)		[33]

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. *Obruba, K., Slosar, J., J. Arient.* Mikrochim. Acta, 1—2, 1966, p. 257.
2. *Johan, F., Onaca, I.* C.S.S. a coloranților antrachinonici (lucrare nepublicată).
3. *Johan, F., Zaharia, M., Bratu, E.* Comunicare la Simpozionul de Chimie Analitică București. (ICECHIM), 1963. Comunicări ICECHIM, vol. IV, p. 216.
4. *Johan, F., Herscovici, B.* C.S.S. a coloranților de dispersie aminonitroantrachinonici (lucrare nepublicată).
5. *Johan, F., Brokman, F., Stoenescu, M.* C.S.S. a unor coloranți aminohalogenoantrachinonici (lucrare nepublicată).
6. *Johan, F., Brockman, F., Gheorghe, P.* C.S.S. a unor coloranți nitro- și aminoantrachinonici (lucrare nepublicată).
7. *Fujii, S., Kanikura, M.* Shokukin Eieigaku Zassi, **4**, 1963, p. 135; C.A., **60**, 1964, p. 9883.
8. *Pollard, F. H., Mickless, G., Samuelson, T. J., Andreson, R. G. J.* Chromatog., **16**, 1965, p. 231.
9. *Johan, F., Mangu, P.* C.S.S. a unor coloranți azoici-reactivi, complecși cu Co și Cr (lucrare nepublicată).
10. *Zaharia, M.* C.S.S. a produșilor intermediari de la prepararea unor coloranți azoici de dispersie (lucrare nepublicată).
11. *Johan, F., Onaca, I., Zaharia, M.* C.S.S. a pigmenților triazinici (lucrare nepublicată).
12. *Johan, F., Onaca, I., Mangu, P.* C.S.S. a unor coloranți diazo-triazinici, mono- și bireactivi (lucrare nepublicată).
13. *Johan, F.* C.S.S. a unor pigmenți aminodiazotriazolici (lucrare nepublicată).
14. *Johan, F., Onaca, I., Sanielevici, H., Corciova, C.* C.S.S. a unor coloranți azoici pe bază de acizi diaminobenzensulfonici și β-naftol (lucrare nepublicată).
15. *Johan, F., Sanielevici, H.* C.S.S. a unor produși intermediari de la prepararea pigmentului de tip „Lackrot C" (lucrare nepublicată).
16. *Logar, S., Perkavec, J., Perper, M.* Mikrochim. Acta, 1964, p. 712.
17. *Loger, S., Perkavec, J., Perper, M.* Mikrochim. Acta **3**, 1967, p. 496.
18. *Berger, J. A., Meyniel, G. J.* Petit Compt. Rendu, **255**, 1962, p. 1116.
19. *Naimy, N. K., Namkung, M. J., Feltcher, T. L.* J. Chromatog., **43**, 1969, 537.
20. *Cee, A., Gasparie, J.* Coll. Czch. Chem. Comm., **33**, 1968, p. 1094.
21. *Nakamura, G. R., Shimoda, S. C.* J. Criminal Law. Criminol. Police, Sci, **56**, 1965, p. 113.
22. *Reiners, V.* Z. Anal. Chem., **229**, 1967, p. 406.
23. *Cotsis, T. P., Garey, J. C.* Drug. Cosmetic Ind., **95**, 1964, p. 172.
24. *Gaenshirt, H., Waldi, D., Stahl, E.* Synthetic Organic Materials. În E. Stahl, Thin-Layer-Chromatography, Academic Press, 1965, p. 347.
25. *Stier, A., Specht, W.* Naturwiessenschaften, **50**, 1963, p. 549.
26. *Latinak, J.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 482.
27. *Chiang, H. C., Shoou-Lii-Lin.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 203.
28. *Hung-Cheh-Chiang.* J. Chromatog., **40**, p. 189.
29. *Chapman, W. B., Oakland, D.* J. Assoc. Publ. Analyst., **6**, 1968, p. 124.
30. *Horobil, R. W.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 545.
31. *Mundschenk, H.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 106.
32. *Bounias, M.* Chim. Analist., **51**, 1969, p. 76.
33. *Mullick, D.* J. Chromatog., **39**, p. 291.

Scanned with OKEN Scanner

Logar, S., Perkavec, J., Perpar, M. Mikrochim. Acta, 1967, p. 496 (coloranţi bazici pentru fibre poliacrilonitrilice).
Kammereck, R. F., Guion, T. H. Am. Dyestuff Reptr., **57**, 1968, p. 555 (coloranţi de dispersie).
Wang, King-Tsung. Nature, **213**, 1967, p. 212 (coloranţi hidrosolubili).
Belini, J. S., Ronayne, M. E. J. Chromatog., **24**, 1966 p. 131 (coloranţi fotosensibili).
Zanibellata, M. Bull. Soc. Ital. Farm. Asp., **13**, 1967, p. 87 (coloranţi+agenţi antifermentativi+antifungicizi din alimente).
Balahe, P., Mulleman-Marsy, D., Traisnel, M. Ann. Pharm. France, **25**, 1967, p. 649 (coloranţi naturali de origine vegetală din medicamente).
Petryka, Z. J., Watson, C. J. J. Chromatog., **37**, 1968, p. 76 (pigmenţi biliari).
Perdih, A. Kem. Ind., **16**, 1967, p. 344 (azopigmenţi cosmetici).
Ţibrea, E. Bul. Inform. Lab. Central Color., **3**, 1967, p. 241 (coloranţi).
Tigge, K. Fette. Seifen, Anstrickmittel, **70**, 1968, p. 680 (înălbitori optici).
Bell, S. J. Assoc. Offic. Anal. Chemist, **52**, 1969, p. 831 (aminoantrachinona din D+C Blue nr. 9).
Moten, L., Kottemann, C. Ibid. **52**, 1969, p. 31 (acid Schaeffer din coloranţi aditivi).

11.13. Agenţi activi de suprafaţă

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Agenţi activi de suprafaţă (arilsulfonaţi de sodiu)	Silicagel G 2 ore la 105°C, impregnat cu 15% U în EP(40—60°C), uscare 1 oră la aer	Apă saturată cu U	30 min la 120°C apoi stropire cu H_2SO_4 5 N: $KMnO_4$ 0,1N (1:1)	[1]
Agenţi activi de suprafaţă neionici de tip PEG (ca 3,5 DNB-distribuţia masei moleculare)	Silicagel G	1) MEC 2) BnOH: H_2O (1:1)	Reactiv Dragendorff modificat ($BaCl_2$)	[2]
Agenţi activi de suprafaţă (de tip PEG din aducţi de etilenoxid)	Silicagel G	1) EtOH: MeOH: NH_4OH (12:3:4)	1) Reactiv Dragendorff 2) $AgNO_3$	[3]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	5	5
		2) Idem (12:4:2) 3) EtOH: MeOH:H_2O (12:4:2)		
Agenţi activi de suprafaţă neionici:poliglicerine +glicerină (diglicerină din glicerină)	Silicagel G	AcOEt: *i*-PrOH:H_2O (65:22,7:12,3)	1) $NaIO_4$ 0,1% iar după 5 min stropire cu 2,8 g sol. benzidină în 80 ml EtOH 96%+ 70 ml H_2O+ 30 ml Me_2CO+ 1,5 ml HCl 2) $AgNO_3$, 20 min la 100°C	[4]
Agenţi activi de suprafaţă — eteri şi esteri ai PEG	Silicagel G	1) BnOH: EtOH: NH_4OH 25%(14:3:5) (în special pentru esteri) 2) Cromatografie continuă în cameră „Vario-KS“, MEC saturat cu H_2O sau $CHCl_3$: MeOH:H_2O (3:25:12) (în special pentru stearoli)	1) Reactiv Dragendorff modificat 2) Iod 0,005 N şi apoi stropire cu sol. amidon 0,2% (pentru cei cu masă moleculară mare) 3) Rodamină B 0,2% în EtOH şi apoi stropire cu KOH 10 N în MeOH 50% şi expunere la lumină U.V. 366 nm (pentru acizi liberi)	[5]
Agenţi activi de suprafaţă: alchilsulfaţi, alchilsulfonaţi, alchilfosfaţi, alchilfosfonaţi, sarcozină N-acilată, esterul oleic al acidului hidroxisulfonic, aminoacizi N-acilaţi cu lanţ scurt	Silicagel G	— MeOH 20% în $CHCl_3$ pentru primii 4 compuşi		[6]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
	Silicagel G+ 10% sulfat de amoniu	— MeOH 3% în $CHCl_3$ (MeOH conține 5% H_2SO_4 0,1 N)		
Agenți activi de suprafață: alchilarilsulfonați, săpunuri, xilensulfonați, toluensulfonați, alcooli etoxilați sulfatați, alchilfenoletoxilați, sulfatați, alcanolamide, etoxilați, aminoacizi	Alumină G	*i*-PrOH	1) Galebn de pinacriptol 0,05% în EtOH apoi expunere la lumină U.V. 2) Pentru cei care nu prezintă fluorescență în lumină U.V., se stropește cu sol. I_2 (alcanolamide)	[7]
Agenți activi de suprafață anionici: oleillaurat de sodiu, laurilsulfat de sodiu, alchilsulfați, alchilsulfonați	Silicagel G Hidroxiapatită	— AcOi-Am: acid propionic: PrOH: H_2O (4:3:2:1) — Bn_2O: MeOH: AcOH (5:5:1)		[8]
Alcooli alifatici din detergenți (șampon lichid)	Silicagel G	— MEC:C_6H_6: EtOH:H_2O		[9]
Agenți activi de suprafață neionici de tip POE, esteri POE ai acizilor grași, esteri ai alchilfenolilor etoxilați și monoetanol amine cu acizii grași, esteri POE ai acizilor grași și POEG	$CaSO_4$ Silice+ $Ba(CH_3COO)_2$ sau Na_2CO_3	MEC:C_6H_6: EtOH:H_2O		[10]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Agenţi activi de suprafaţă neionici-alcooli polietoxilaţi	Silicagel G	AcOEt:AcOH: H_2O (70:16:15)	Reactiv Dragendorff	[11]
Lignosulfonaţi de sodiu (distribuţia masei moleculare prin combinarea C.S.S. cu cromatografie prin filtrare pe gel)	Sephadex-Superfine Grades G 25; G 50; G 75; G 100, 10 min la 80°C	Soluţie tampon pH 6,8 (23,9 g fosfat disodic, 9,1 g fosfat monopotasic şi 5,85 g NaCl)	Eluatele se studiază prin spectometrie în U.V.	[12—13]
Emulgatori din alimente	Silicagel G impregnat cu oxalat de potasiu	$CHCl_3$MeOH (99:1)	2,7 —DCF şi expunere în lumină U.V.	[14]
Polietilenglicoli şi polipropilenglicoli (3,5-DNB derivaţi)	Silicagel neutru	$CHCl_3$:MeOH	$KMnO_4$ 2% în H_2SO_4 2 N, 10 min la 110°C	[15]
Alchilfenoli etoxilaţi, alcooli etoxilaţi, alchilfosfaţi etoxilaţi	Silicagel G	C_6H_6:AcOH (9:1)	1) Soluţie 1% I_2 în MeOH 2) AFM 20% în EtOH, 10 min la 120°C	[16]

Bibliografie

1. *Dunn, E., Robson, P.* J. Chromatog., **32**, 1967, p. 300.
2. *Burger, H.* Z. Anal. Chem., **224**, 1966, p. 425.
3. *Obruba, K.* Cooll. Czech. Chem. Comm., **27**, 1962, p. 2968; C.A., **58**, 1963, 9337.
4. *Seher, A.* Fette-Seifen, Anstrichmittel., **66**, 1964, p. 371.
5. *Thoma, K., Rombach, R., Ullman, E.* Arch. Pharm., **298**, 1965, p. 19.
6. *Mangold, H. K., Kammereck, R.* J. Am. Oil Chem. Soc., **39**, 1962, p. 201.
7. *Desmond, C. T., Bordan, W. T.* J. Am. Oil Chem. Soc., **41**, 1964, p. 552.

Scanned with OKEN Scanner

8. *Hofmann, A. F.* Thin Layer Adsorbtion Chromatography of Lipids, Amsterdam, Elsevier, 1963, p. 1.
9. *Yoshikawa, K.* Yukagaku, **15**, 1965, p. 65.
10. *Yoshikawa, K.* Yukagaku, **15**, 1965, p. 319, J. Am. Oil Chem. Soc., **44**, 1967, p. 4017.
11. *Patterson, S. J., Scott, C. C., Tucker, K. B. E.* J. Am. Oil Chem. Soc., **44**, 1967, p. 407.
12. *James, A. N., Pickard, E., Shotton, P. G.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 64.
13. *Rau, J. H., Hasse, H.* Malliand, Textilber., 1965, p. 1318.
14. *Gernert, F.* Z. Lebensmittelunters u. Forsch., **138**, 1968, p. 216.
15. *Salvage, T.* Analyst, **95**, 1970, p. 363.
16. *Johan, F., Zaharia, M.* C.S.S. a unor alchilfenolietoxilaţi şi alchilalcoolietoxilaţi (lucrare nepublicată).

Bibliografie suplimentară

Wickbold, R. Fette, Seifen, Anstr. Mittel **70**, 1968, p. 688 (etilenoxizi omologi).

Ludwig, F. Y. Analyst Chem., **40**, 1968, p. 1620 (etilenoxid+propilenoxid).

Schmidt, P., Sucker, H. Z. analyt. Chem., **242**, 1968, p. 250 (emulgatori pe bază de POEG).

Hayano, S., Nihongi, T., Asahasa, T. Tenside, **5**, 1968, p. 80 (polioxietilenonilfenileter).

Mukherjea, R.N., Gupta, A. Fette, Seifen, Anstrichmittel, **70**, 1968, p. 876 (agenţi activi de suprafaţă pe bază de acizi graşi saturaţi şi nesaturaţi).

Hordynska, S., Legatowa, B. Rocznicki Panstwowego Zakladu Hig., **18**, 1967, p. 189; C. A., **67**, 1967, p. 65716 b (reziduuri de detergenţi anionici şi cationici).

Kowrovtzeef, K. Rev. Franc. Corp. Gras., **13**, 1966, p. 534; C. A., **65**, 1966, 20373 h (agenţi activi de suprafaţa cationici, amine, poliamine, săruri).

Patterson, S. Y., Hunt, E. C., Tucker, K. B. E. C. A. **65**, 1966, 19826 g (agenţi activi de suprafaţă uzuali neionici).

Patterson, S. Y., Hunt, E. C., Tucker, K. B. E. C. A., **67**, 1967, p. 25239 f (agenţi activi de suprafaţă neionici din apele rîurilor).

Kazuikomschi, E. Anal. Chem., **38**, 1966, p. 1755 (agenţi activi de suprafaţă neionici de tip POE, determinarea distribuţiei masei moleculare).

Kröller, E. Fette, Seifen, Anstr. chmittel., **70**, 1968, p. 431, 119 (emulgatori din alimente).

Gregorowicz, Z., Baranowscki, R., Landon, A. Chem. Anal. Warsaw, **13**, 1968, p. 447 (agenţi activi de suprafaţă neionici de tip POE).

Konig, H. Z. Anal. Chem., **235**, 1968, p. 255 (emulgatori pe bază de esteri fosforici şi alcooli graşi şi etoxilatele lor).

Arpino, A., De Rosa, A. V. Chem. Phys. Appl. Surface Active Subst., 1967, p. 497; C. A., **70**, 1969, p. 89065 r (amestecuri de surfactanţi).

Scanned with OKEN Scanner

11.14. Pulberi explozive, stabilizatori şi plastifianţi din pulberi, substanţe iritante

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Compuşi rezultaţi la fabricarea 2-nitrodifenilaminei (stabilizator pentru pulberi explozive): mononitroclorbenzen, dinitroclorbenzen, anilină, mononitrodifenilamină, dinitrodifenilamină	Silicagel G Silicagel G: silicat de Mg (3:1) Alumină bazică Woelm (200 mesh) + $CaSO_4$ 30%, 18 ore la aer şi 15 min la 120°C	1) EP: AcOEt (9:1) 2) EP: ciclohexanonă (95:5) 3) T: dicloretilen (95:5) 4) C_6H_{12}: AcOEt (9:1)		[1]
Stabilizatori şi plastifianţi din pulberi explozive pe bază de nitroglicerină şi produsii lor de degradare	Silicagel G (Merck)	C_6H_6: AcOEt (17:3)	Eluatele în AcOEt apoi studiere prin spectroscopie IR şi U.V.	[2]
Stabilizatori din pulberi explozive pe bază de difenilamină	Silicagel G	1) C_6H_6 2) $CHCl_3$ 3) T	$NaNO_2$ 0,2% şi apoi stropire cu H_2SO_4 1 N	[3]
Stabilizatori din pulberi explozive: difenilamină, centralită, 2-nitrodifenilamină, N-nitrozodifenilamină, dinitrotoluen, triacetină, uretani	Silicagel G	1) C_6H_6	1) Reactiv Muroeour: 5 g $K_2Cr_2O_7$ + 100 ml AcOH + 50 ml H_2SO_4 + 100 ml H_2O (pentru 1,2-nitroderivaţi)	[4]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			2) Reactiv A: $NH_2OH \cdot HCl$ 5% în KOH 10% 3) Reactiv B: $FeCl_3$ 2% în HCl 2 N (pentru triacetină) 4) 1,25 g DFA în H_2SO_4 conc. (250 ml) (pentru nitroglicerină) 5) HNO_3 conc. 30 min la 110°C și apoi stropire cu NaOH 30% (pentru difeniluretani)	
Derivați cu azot ai DFA (din pulberi)	Silicagel G 30 g+pulbere Zn 3 g+ H_2O 65 ml, 2 ore la 110°C	Bidimensional a) Me_2CO: C_6H_6:EP (2:99:99) b) AcOEt: EP(2:8)	*p*-DABA 0,25% în HCl 0,25 N în EtOH absolut	[5]
Produși rezultați la nitrarea etilcentralitei (din pulberi explozive)	Silicagel G 30 g+ pulbere Zn 3 g+ H_2O 65 ml, activare peste noapte la 120°C	Bidimensional a) 1,2-Dicloretan b) AcOEt: EP (1:3)	1) DCF 0,003% în EtOH 2) *p*-DABA 0,25% în HCl 0,2 N în EtOH abs.	[6]
Produși de descompunere ai trinitrotoluenului (din pulberi)	Silicagel G+ pulbere de zinc	EP:AcOEt (85:13)	*p*-DABA	[7]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Impurităţi din α-trinitrotoluen (din pulberi)	Silicagel G+ pulbere zinc, 2 ore la 110°C	Bidimensional a) AcOEt: EP (3:17) b) 1,2-Dicloretan: EP (1:3)	*p*-DABA 0,25% în HCl 0,25 N, în EtOH abs.	[8]
Trinitrotolueni şi dinitrotolueni	Silicagel G 30 g+ pulbere zinc 1 g+ H_2O 60 ml	1) C_6H_{12}: $CHCl_3$ (7:3) 2) EP: MEC (9:1)	*p*-DABA	[9]
Compuşi de la fabricarea trinitrotoluenului	Silicagel cu amidon 30 g+H_2O caldă 75 ml, 2 ore la 110°C	1) C_6H_6: C_6H_{12}: AcOEt (50:45:5) (pentru TNT purificat) 2) C_6H_6: Et_2O: EtOH (50:30:20) (pentru produşii de oxidare) Bidimensional a) C_6H_6: C_6H_{12} (3:1) b) C_6H_6: C_6H_{12}: AcOEt (50:45:5) (pentru produşii de nitrare)	Expunere la lumină U.V. apoi stropire cu etilendiamină	[10]
Substanţe iritante utilizate în armată: α-brombezilcianură, *o*-clor-	Alumină acidă (Woelm) +Ultracal 30	— 5% CH_2Cl_2 în C_6H_6 (pentru compuşii *a*)	1) Chinonă 0,5% în MeOH apoi stropire cu 5% NaOH (pentru compuşii *a*)	[11]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
benzalmalononitril, α-cloracetofenonă, difenilcianoarsină, difenilaminocloroarsină (*a*); benzildicianură, benzilcianură, benzilbromură, dibrombenzilcianură, fenilbromacetamidă (*b*); *o*-clorbenzaldehidă, malononitril, acetofenonă (*c*); difenilamină, difenilaminoclorarsinoxid (*d*)	Silicagel G Alumină acidă (Woelm) Silicagel G Silicagel G bazic	— C_6H_6 (pentru compușii *b*) — Diclormetan 25% în C_6H_6 (pentru compușii *c*) — 20% Me_2CO în $CHCl_3$ (pentru compușii *d*) — 10% AcOEt în MeOH	2) 4-(4′-Nitrobenzil)-piridină 5% în Me_2CO (pentru compușii *a*), apoi stropire cu 5% perclorat de potasiu în ftalat acid de potasiu (92,11 mg în 100 ml H_2O adus la *p*H 5 cu NaOH 1 N și apoi expunere la 105°C 3) *o*-Dianisidină 0,1% în EtOH apoi stropire cu acetat de cupru 0,1%+2 picături AcOH și apoi stropire cu H_2SO_4 50% (pentru compușii *a*) 4) 4-(4′-Nitrobenzilpiridină (pentru compușii *b*) 5) *m*-Dinitrobenzen 1% și apoi stropire cu NaOH 20% (pentru compușii *b*) 6) vapori iod 7) 4,4′-Nitrobenzilpiridină (pentru compușii *c*) 8) *o*-Dianisidină-H_2SO_4 (pentru compușii *d*)	[11]

Bibliografie

1. *Parihar, D. B., Sharma, S. P. Prakash, O. M., Werma, K. K. J.* Chormatog., **43**, 1969, p. 524.
2. *Macks, G. F.* J. Chromatog., **38**, 1968, p. 47.
3. *Hansson, J., Alms, A.* J. Chromatog., **9**, 1962, p. 385.
4. *Pilar del Campo* Explosivstoffe, **2**, 1965, p. 385.
5. *Yasuda, S. K.* J. Chromatog., **14**, 1964, p. 65.
6. *Yasuda, S. K.* J. Chromatog., **16**, 1964, p. 488.
7. *Rogers, R. N.* Anal. Chem., **39**, 1967, p. 730.
8. *Yasuda, S. K.* J. Chromatog., **13**, 1964, p. 78.
9. *Johan, F.* Separarea prin C.S.S. a dinitro- şi trinitrotoluenului (lucrare nepublicată).
10. *Kohlbeck, J. A., Chandler, C. D., Boelleter, W. T.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 173.
11. *Ludemann, W. D., Stutz, M. M., Sass, S.* Anal. Chem., **41**, 1969, p. 679.

Bibliografie suplimentară

Boehm, G. O. Explosivstoffe, **15**, 1967, p. 24 (derivaţi nitroaromatici din pulberi explozive).

Parihar, D. B., Sharma, S. P., Varma, K. K. J. Chromatog., **31**, 1967, p. 551 (nitraţi explozivi).

Hansson, J. Explosivstoffe, **10**, 1963, p. 73 (produşi de descompunere a DFA din pulberi explozive uzuale).

Hayward, L. D., Kitchen, R. A., Livingstone, D. Y. Canad. J. Chem., **40**, 1962, p. 434 (fotonitrarea DFA).

Parinar, D. B., Shrama, S. P., Tewari, K. C. J. Chromatog., **24**, 1966, p. 230 (polinitrofenoli, nitrozofenoli, nitrohidrochinone din pulberi explozive).

Kohlbeck, J. A. Anal. Chem. **37**, 1965, p. 1282 (nitroglicerină şi rezorcină din pulberi explozive).

Ripper, E. Explosivstoffe, **15**, 1967, p. 57; C. A., **67**, 1967, p. 92458 q (pulberi explozive).

Dykes, H. W. H. Brevet S.U.A. 3335185 (260—576) 1967; C. A., **67**, 1967, p. 92483 u.

Jacobsson, O. Symp. Chem. Probl. Connected. Stabil. Explos., 1967, publicat 1968, p. 143; C. A., **70**, 1969, p. 10791 u (DFA şi centralita din pulberi explozive).

Scanned with OKEN Scanner

11.15. Produse fitofarmaceutice (insecticide, fungicide, acaricide, raticide) organofosforice, clorurate, carbamate, fenolice, nitro-aminoderivaţi, derivaţi ai ureii, piretrine şi diferite alte tipuri de pesticide

Compuşii separaţi	Faza staţionară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Insecticide organo-fosforice	Silicagel G	1) C_6H_6: Me_2CO (19:1); 2) Idem (9:1); 3) Idem (2:1) 4) C_6H_{14}: Me_2CO (4:1) (pentru bromofos) 5) CH_2Cl_2: Me_2CO (pentru dimetoat)	1) Vapori Br_2 apoi lumină U.V. 375 nm în atmosferă de NH_4OH şi apă (1:4), apoi reactiv de identificare enzimatic	[1]
Fosfotox R (Rogor-Dimetoat)	Silicagel G Silicagel G 30 g + H_3BO_3 0,1 N 60 ml	1) C_6H_{12}: Me_2CO (2:1) 2) C_6H_{14}: Me_2CO (2:1) 3) C_6H_{14}: $CHCl_3$: Me_2CO (1:1:1) 4) C_6H_{12}: Me_2CO (1:1)	1) Iod 1% în MeOH 2) AFM 2% în EtOH, 10 min la 120°C	[2]
Etion E-metilen-oximetilen-bis (*o,o*-dietilditio-fosfat)+alchil-eteri superiori	Silicagel G	1) C_6H_{14}: Me_2CO (8:1) 2) Idem (10:1) (pentru alchil eteri superiori)	1) AFM 20%, 10 min la 120°C 2) Iod 1% în MeOH 3) $KMnO_4$ 1%: Na_2CO_3 1% (1:1)	[3]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			4) Vanilină 1,5% în EtOH abs.+0,5 ml H_2SO_4 conc.	
Pesticide (fosforotio, carbamate şi fosfatice)	Alumină G sau silicagel H	1) Me_2CO: T:C_6H_{14} (1:1:5) (pentru compuşii mai puţin polari) 2) Me_2CO: T:C_6H_{14}: AcOEt (2:1:2:1) (pentru compuşii polari)	Metoda Archer-Zweig colinesterază-acetat de indofenil	[4]
Insecticide carbamate (carbaril-impurităţi)	Silicagel G	1) C_6H_6: AcOH (9:1) 2) T 3) C_6H_6: Me_2CO (4:1) 4) T:MeOH: DEA (90:5:5)	1) Amestec $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% în EtOH 50%: $FeCl_3$ 5% în EtOH (2:1) 2) $NaNO_2$ 5% în H_2O 3) Acid sulfanilic diazotat 4) *p*-Nitroanilină diazotată	[5]
Pesticide carbamate din alimente	Silicagel G-HR	Me_2CO: C_6H_{14} (1:9)	Activitate inhibitoare enzimatică	[6]
Pesticide clorurate	Alumină G (Merk), 72 ore la aer Alumină AG-7 (Bio-Rad Neutral), 72 ore la aer impregnată cu DMF 25% în Et_2O	1) C_7H_{16} 2) Me_2CO 2% în C_7H_{16}; — Izooctan	15 min la 50°C apoi stropire cu reactiv Mitchell	[7]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Ierbicide clorurate	Kieselgur G 60%+ Silicagel G 40%, 2 ore la 120°C	UP:C_6H_6: AcOH: C_6H_{12} (1:3:2:20) (se analizează extractele eterice acidulate cu H_2SO_4)	Reactiv Mitchell: 1,7 g $AgNO_3$ în 5 ml H_2O +20 ml 2-fenoxietanol și se diluează la 200 ml cu Me_2CO +1 picătură H_2O_2 (30%), se decantează peste noapte. Din soluția stoc se face o soluție 0,5% în EtOH 95% apoi se expune 10 min la 120°C și la lumină U.V.	[8]
Insecticide organo-clorurate (13 compuși)	Silicagel G 30 g+ H_3BO_3 0,1 N 58 ml, 15 min la aer și 10 min la 110°C Silicagel	1) EP; 2) C_6H_{14}; 3) Izooctan	DFA 0,5% în EtOH+$ZnCl_2$ 0,5%, 10 min la lumina zilei sau 5 min la lumină U.V. și apoi 10 min la 120°C	[9]
Insecticide clorurate: Gamexan-Lindan (9 compuși)	Silicagel	1) CCl_4; 2) C_6H_{14} migrare continuă 2 ore 3) C_6H_{14}: $CHCl_3$ (24:6)	DFA+$ZnCl_2$+ lumină U.V.	[10]
Faltan (ftalo-permidin)	Silicagel G	1) $CHCl_3$: MeOH: NH_4OH 17% (2:2:1) 2) $CHCl_3$: MeOH (96:4)	1) DFA—$ZnCl_2$, 20 min la 110°C 2) I_2+amidon (pentru compușii cu hidrogen activ la azot)	[11]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Ierbicide halogenate-morfactine	Silicagel G+ 0,5 g cofeină (pentru o placă) în apă caldă	Et_2O:EP (1:1)	10 ml H_2SO_4 conc.+0,2 ml CH_2O 36% și expunere lumină U.V.	[12]
Morfactine (TAS — cromatografie) — produșii volatilizați	Silicagel GF_{254}	C_6H_{14}: AcOEt (7:3)	Expunere lumină U.V.	[13]
Pesticide nitroclorurate	Alumină	1) C_6H_{14}: Me_2CO (7:1) 2) Idem (10:1) 3) Idem (15:1) 4) Idem (30:1) 5) Idem (9:1) 6) C_6H_{14} 7) C_6H_{14}: Me_2CO (7:2) 8) Idem (7:1)	1) Expunere lumină U.V.; 2) Reducere cu $SnCl_2$ și apoi stropire cu *p*-DABA; 3) NaOH 2 N în EtOH	[14]
Pesticide nitroclorurate — Dicloran, Botran-: 2,6-diclor-*p*-nitroanilină, *p*-clornitroanilină, *o*-clornitroanilină	Silicagel G Silicagel G 30 g+pulbere Zn 1 g+ 60 ml H_2O)	1) C_6H_6 2) C_6H_6: Me_2CO (9:1) 3) Idem (8:2)	1) *p*-DABA 2) NaOH 2 N și expunere la 100°C 5—10 min	[15]
Clorbromuron și metaboliți (din pământ)	Silicagel G (benzi Eastman)	C_6H_{14}:AcOEt (15:2), migrare repetată de 2 ori apoi cu $CHCl_3$:Py (10:1)	Reactiv Mitchell:20 ml 2FOE la o soluție din 1,7 g $AgNO_3$ în 5 ml H_2O, diluare cu Me_2CO la 200 ml+1 picătură H_2O_2	[16]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
			30% și expunere la lumină U.V.	
Ierbicide ureice	Celuloză MN-300, 60 min la 110°C	DMF:HCl 0,5N :EtOH (6:2:2)		[17]
Ierbicide triazinice: Simazin, Propazin	Silicagel G	1) $CHCl_3$: MeOH (9:1) 2) Idem (98:2) 3) $CHCl_3$: Me_2CO (8:2) 4) Idem (9:1) 5) $CHCl_3$: Me_2CO: MeOH (8:1:1)	1) IK+amidon; 2) Reactiv Dragendorff; 3) DFE—$ZnCl_2$; 4) $K_3[Fe(CN)_6]$—$FeCl_3$	[18]
Piretrine-insecticide sinergice din plante	Silicagel G	Bidimensional C_6H_{14}:AcOEt (3:1), apoi expunere la lumină U.V. și solară și se cromatografiază produșii de oxidare	1) $SbCl_3$ 2) $SbCl_5$ 3) 2,4-DNFH 4) 5 ml sol. 4% KI+ 20 ml AcOH (se decolorează cu cîteva picături de bisulfit de sodiu 1%. După 2—3 min se stropește cu amidon 1%	[19]
Rodenticid ANTU (naftiltiouree)	Silicagel G	C_6H_6:AcOH (9:1)	$K_3[Fe(CN)_6]$ 1%: $FeCl_3$ (2:1)	[20]
Metaaldehidă	Adsorbosil-1, uscare la aer	1) $CHCl_3$ 2) Me_2CO: C_6H_6 (1:4) 3) AcOEt 4) MeOH:T (1:4)	Guaiacol 5% în $CHCl_3$ apoi stropire cu H_2SO_4 conc. la 90°C	[21]
Ierbicide nitrofenolice: 2,4-dinitro-*o*-*sec*-butil-	Silicagel G+ H_3BO_3 0,1 N	1) $CHCl_3$: MeOH:T (10:4:1) pentru toți compușii)	1) NaOH 10% eventual la cald (pentru intensificarea	[22]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
fenol) *o*-nitrofenol (*a*); *m*-nitrofenol (*b*); *p*-nitrofenol (*c*); 2,4 DNoSBF (*d*); 2,5-dinitrofenol (*e*); 4-N-2,6-DSBF (*f*); 2,6-dinitro-*p*-*sec*-butilfenol (*g*); 2,4-dinitrofenol (*h*); 2,6-dinitrofenol (*i*); 2,4,6-trinitrofenol (*j*)		2) $CHCl_3$: MeOH:T (10:2:1) (în special pentru dozarea compușilor *d* și *j*; 3) Idem (10:6:1) (pentru *j*); 4) $CHCl_3$ MeOH (10:4) (în special pentru *d* și *j*); 5) $CHCl_3$: MeOH (10—1) (în special pentru *j*, mono- și dinitrofenoli); 6) Idem (10:2) (pentru compușii *d*, *j* și dinitrofenoli) 7) T:MeOH (10:2) (pentru mononitrofenoli) 8) Idem (10:4) (pentru *d* și mononitrofenoli) 9) T (pentru mononitrofenoli); 10) $CHCl_3$ (pentru dinitrofenoli și dozarea lui *a*, în prezența lui *b* și *c*)	coloraţiei nitroderivaţilor şi colorarea mononitroderivaţilor	[22]

Bibliografie

1. *Ackermann, H.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 309.
2. *Johan, F., Ambruş, T.* Metodă C.S.S. pentru separarea compuşilor rezultaţi la prepararea fosfatoxului R (lucrare nepublicată).
3. *Johan, F., Onaca I., Anghelescu N.* Metoda C.S.S. pentru studierea structurii şi a condiţiilor de preparare a noului insecticid metilenmonooximetilen-bis- (o, o-dioctilditiofosfat) (lucrare în curs de apariţie).
4. *Winterlin, W., Wolker, G., Frank, H.* J. Agric. Food. Chem., **16**, 1968, p. 808.
5. *Johan, F.* C.S.S. a carbarilului (lucrare nepublicată).
6. *Wales, P. J., Mc Leod, H. H., Lc. Kinley, W. P.* J. Ass. off. analyt. Chem., **51**, 1968, p. 1239.
7. *Thomas, E. J., Burke, J. A., Lawrence, J. H.* J. Chromatog., **35**, 1968, p. 119.
8. *Abbot, D. C., Buting, J. A., Thomson,* J. Analyst, **90**, 1965, p. 356.
9. *Johan, F., Onaca, I.* Metodă C.S.S. pentru determinarea izomerilor DDT (lucrare nepublicată).
10. *Johan, F., Onaca, I.* Metodă C.S.S. pentru determinarea izomerilor HCH (lucrare nepublicată).
11. *Zaharia M.* Metodă C.S.S. pentru determinarea compuşilor rezultaţi la prepararea Faltanului (lucrare nepublicată).
12. *Parups, E. V., Jones, J. D.* J. Chromatog., **36**, 1968, p. 318.
13. *Stahl, E.* Naturwissenschaften, **55**, 1968, p. 65.
14. *Obruba, K., Naviatil, F.* Chem. Prumysl., **17**, 1967, p. 157.
15. *Johan, F., Tiliucă, R.* Metodă C.S.S. pentru determinarea compuşilor rezultaţi la prepararea Dicloranului (lucrare nepublicată).
16. *Katz, S. E., Strusz, R. F.* Bull. envir. Contam. Toxicol., **3**, 1968, p. 258.
17. *Geisbuhler, H., Gross, D.* J. Chromatog., **27**, 1967, p. 296.
18. *Zaharia, M.* Metodă C.S.S. pentru studierea compuşilor rezultaţi la prepararea Simazinului şi Propazinului (lucrare nepublicată).
19. *Stahl, E.* Arch. Pharm., **293**, 1960, p. 531.
20. *Johan, F.* Metodă C.S.S. pentru studierea compuşilor rezultaţi la prepararea Antuului (lucrare nepublicată).
21. *Mays, D. L., Born, G. S., Christian, J. E.* Bull. envir. Contam. Toxicol., **3**, 1968, p. 366.
22. *Johan, F., Zaharia, M., Bratu, E.* Simpozionul de chimie analitică, ICECHIM, Bucureşti, 1963, Comunicări ICECHIM vol. IV, p. 216.

Bibliografie suplimentară

Askow, J., Rujicka, J. H., Wheals, B. B. J. Chromatog., **37**, 1968, p. 369 (insecticide organofosforice, carbamice şi derivaţi de uree).

Kadoum, A. M. Bull. envir. Contam. Toxicol., **3**, 1968, p. 354 (reziduuri de pesticide uzuale).

Fiekentseler, K., Jackwetth, E. Z. Anal. Chem., **227**, 1967, p. 23 (regulatori de creştere a plantelor -butil-9-hidroxifluoren-9-carboxilat).

Bontoyan, W. J. AOAC, **49**, 1966, p. 1169 (pesticide din produse comerciale).

Eliakis, E. C., Coutselinis, A. S. Annal. Pharm. Franc., **25**, 1967, p. 361 (pesticide în toxicologia medico-legală).

Tomuş, R. Rev. de Chimie, Bucureşti, **20**, 1969, p. 259 (malation, dimetoat, etion din soluţii diluate).

Scanned with OKEN Scanner

Frei, R. W., Freemann, C. D. Mikrochim. Acta, **6**, 1968, p. 1214 (ierbicide triazinice).
Abou-Donia, M. B., Menzel, D. B. J. Ass. Off. analyt. Chem., **51**, 1968, p. 1247 (DDT prin C.S.S., cromatografie în fază gazoasă și I. R.).
Beitz, H., Ehrt, M. Z. Chemie Lpz., 8, 387; Anal. Abst., **18**, 1970, p. 2053 (reziduuri de fosforotioați din plante).

11.16. Produse auxiliare utilizate în industria materialelor plastice, cauciuc, textile, lacuri și vopsele, alimentară, pulberi explozive

Compușii separați	Faza staționară	Faza mobilă	Reactivul de identificare	Bibliografia
1	2	3	4	5
Ingrediente pentru cauciuc, antioxidanți aminici și fenolici, antiozonați, guanidine, acceleratori	Silicagel G 1 oră la 110°C	1) C_6H_6: Me_2CO: NH_4OH conc. (100:5:0,1) Bidimensional a) =1) vid la 50°C b) C_6H_{12}: Me_2CO: NH_4OH conc. (100:5:0,1) 2) C_6H_{12}: C_6H_6: Me_2CO (100:10:1) 3) C_6H_6 C_6H_{14}: (8:1) (pentru fenoli) 4) C_6H_6: AcOEt: Me_2CO (100:5:1) (pentru amine, amide, MBT)	1) 4% benzoilperoxid în C_6H_6 2) 2,6-DCCCI (pentru fenoli) 3) Ninhidrină+ azotat de Bi (pentru amine, amide) 4) NaClO 4% (pentru guanidine)	[1]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
		5) 1% NH_4OH conc. în Me_2CO (pentru guanidine) 6) $BnOH:H_2O$: FOH (5:1:1) (pentru clorhidrați de amine)		[1]
Acceleratori din cauciuc (tiram și grupa carbamat)	Silicagel	C_6H_6:AcOEt (9:1)	$CuSO_4$ 3%	[2]
Antioxidanți (8 tipuri): butilhidroxitoluen, butilhidroxianisol, stearilgalat, cetilgalat, laurilgalat, etilprotocatehuat, amilgalat, propilgalat	Poliamidă (benzi)	1) EP(30—70°C): $C_6H_6:Me_2CO$ (8:2:5) 2) Me_2CO: $EtOH:H_2O$ (4:1:2)	1) Br_2 5% în CCl_4 2) Fluoresceinat de Na 0,25% în EtOH abs.+5 ml DMF	[3]
Antioxidanți din polietilenă și polipropilenă	Silicagel G impregnat cu 5% (Dow-Corning Silicone)	1) $EtOH:H_2O$ (3:1) 2) C_6H_{12}:MeOH (100:2)	AFM 3% în EtOH+ H_2O, la cald și expunere la vapori de NH_3	[4]
Antioxidant pentru cauciuc [produși de condensare între 1,2-dihidro-2,2,4-trimetilchinolină și $(Me_3)_2CO$]	Silicagel G Anasil	1) C_6H_6:MeOH: AcOH (14:0,5:0,5)	1) Sol. I_2 1% în MeOH 2) AFM 20% 3) *p*-DABA 4) $K_3[Fe(CN)_6]$ $FeCl_3$ 5) $KMnO_4$ 6) Vanilină-H_2SO_4 conc.	[5]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Stabilizatori și antioxidanți — de tip bisfenol împiedicați (cu punte metilenică)	Silicagel G	1) T:MeOH:DEA (105:0,3:1) 2) C_6H_{12}: $CHCl_3$:DEA (3:1:0,1) 3) Idem (2:1:0,3)	$KMnO_4$	[6]
Stabilizatori și antioxidanți de tip tio-bisfenoli împiedicați	Silicagel G	T:MeOH:DEA (45:3:3)	1) AFM 2) Acid sulfanilic diazotat	[7]
Antioxidanți pentru cauciuc vulcanizat de tip diarilamine secundare	Silicagel G Silicagel G 30 g + pulbere zinc 1 g + 60 ml H_2O	1) C_6H_6:Me_2CO (8:2) 2) C_6H_6 3) EP:AcOEt (75:25) 4) Me_2CO: C_6H_6:EP (2:9:9)	1) *p*-DABA 0,25 % în HCl 0,25 N alcoolic 2) AFM 3) Reactiv Dragendorff	[8]
Antioxidanți, acceleratori pentru cauciuc, produși de condensare între 6-etoxi-2,2,4-trimetil-1,2-dihidrochinolină și $(Me_3)_2CO$	Silicagel G Silicagel G + pulbere zinc	C_6H_6:MeOH: AcOH (94:3:3)	1) 5% $NaNO_2$ 2) Reactiv Dragendorff 3) Idem [5]	[9]
Antioxidant-stabilizator și monomer pentru diferiți polimeri [2,2-bis-(4-hidroxifenil)-propan]	Silicagel GF_{254}: Celuloză MN-300: Bolus: Leucht-pigment ZS-super (10:5:2:1) + 50 ml H_2O, uscare peste noapte la temperatura camerei Silicagel G	1) C_6H_6:MeOH: AcOH (94:3:3) 2) C_6H_6:MeOH: DEA (90:5:5)	1) Idem [5] 2) Acid sulfanilic 3) *p*-Nitroanilină 0,5% în HCl 2 N	[10]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Auxiliari pentru materiale plastice (antistatice, stabilizatori, avivaje pe bază de laurilfosfaţi şi izooctilfenol-etoxilat)	Silicagel G Celuloză MN-300 (spălată cu faza mobilă)	1) C_6H_6:AcOH (9:1) 2) C_6H_6:MeOH:AcOH (85:10:5) 3) Idem (90:5:5) 4) C_6H_{14}:Me_2CO (6:1) — H_2O:EtOH:*i*-BnOH:*i*-PrOH:NH_4OH:acid tricloracetic (25:35:15:20:0,4:5) (pentru acizi fosforici)	1) AFM 20% 2) Sol. 1% molibdat de amoniu+1 ml HCl conc.+5 ml acid percloric 72% în 100 ml H_2O apoi stropire cu 1 picătură sol. sat. $SnCl_2$ (4 g la 1 ml HCl 0,2 N pentru acizi fosforici)	[11]
Adezivi pentru hîrtie	Silicagel G Alumină G	BnOH 90%	H_2SO_4 conc. la 120°C	[12]
Acceleratori pentru cauciuc de tip Captax (MBT-mercaptobenztiazol) şi vulcacit DM (di-MBT), CZ, MOR	Silicagel G	1) $CHCl_3$:C_6H_6 (8:2) 2) $CHCl_3$:C_6H_6 (7:3)	1) *p*-DABA 2) Sol. iod 1% în MeOH 3) Reactiv Dragendorff (pentru derivaţi de MBT) 4) $KMnO_4$ alcalin	[13]
Plastifianţi	Silicagel G	CH_2Cl_2	1) $SbCl_5$ 20% în CCl_4 la 120°C 2) Sol. iod	[14]
Conservant din cauciuc natural (pentaclorfenol)	Silicagel G, 1 oră la 105°C	$CHCl_3$:AcOH (100:1)	$CuSO_4$—sol. Py	[15]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Antioxidanți fenolici-stabilizatori-absorbanți de lumină U.V. din ceruri parafinice	Silicagel G+ US 5% (Dow Corning Silicone)	1) MeOH:H_2O (9:1) 2) EtOH:H_2O (7:3) 3) Idem (3:1)	FNBD 0,1%	[16]
Absorbanți de lumină U.V. pentru materiale plastice, coloranți, textile, lacuri, vopsele etc. (derivați ai 2-hidroxibenzofenonei și 2,2-dihidroxibenzofenonei)	Silicagel D (VEB) 20 g+ 40 ml H_3BO_3 20%, 2 ore la aer apoi 1 oră la 170°C Poliamidă pulbere 18 g+gips semihidrat 3 g+H_2O 60 ml, uscare 2 ore la aer	1) C_7H_{16}:EtOH (75:25) 2) CCl_4:EtOH (180:1,5) 3) $CHCl_3$:C_6H_6 (8:2) 1) $CHCl_3$:EtOH (130:5) 2) Idem (130:20) 3) Idem (130:10) 4) $CHCl_3$:AcOH (150:0,5)	Acid sulfanilic diazotat 0,5% în K_2CO_3 10%	[17]
Conservanți alimentari (8 tipuri)	Poliamidă Woelm lg+ EtOH 12 ml Poliamidă Wako B-10 14 g+H_2O 56 ml, uscare la aer	1) MeOH:H_2O (6:4) 2) Me_2CO:H_2O (1:1) 3) MeOH: AcOH:H_2O (5:1:4) 4) MeOH: NH_4OH conc.:H_2O_2 (2:1:7) 5) AcOH:H_2O (3:7) 6) C_6H_{14}:AcOH (8:2)	1) Expunere lumină U.V. 2) Acid sulfanilic 1 g în 8 ml HCl conc. +100 ml H_2O cu $NaNO_2$ 0,69% (1:1) 3) Roșu metil 0,1% în EtOH: tampon fosfat pH 7 (1:2)	[18]
Conservanți alimentari, esterii acidului p-hidroxibenzoic, acid dihidroacetic, salicilic, sorbic, benzoic	Silicagel G: Kieselgur G (3:1) sau (1:3)	C_7H_{16}:AcOH (24:1) sau (9:1)	Rodamină B	[19]

Scanned with OKEN Scanner

1	2	3	4	5
Bisfenol A (impurități)	Silicagel G+ Rodamină B	1) $CHCl_3$: Me_2CO:MeOH (36:1:1) 2) $CHCl_3$: Me_2CO: MeOH:C_7H_{16} (36:1:1:1)	Vapori iod+ lumină U.V.	[20]
Antioxidanți	Silicagel G	1) C_6H_6:AcOH (15:4) 2) Idem (7:3) 3) Idem (5:6)	10 min la 110°C apoi stropire cu 0,1% 3,5-DC*p*BCCI, 15 min la 110°C apoi expunere la vapori NH_3	[21]
Alchilgalați (soluții în 2% cinconină sau stricnină în $CHCl_3$)	Silicagel G 30 g+EtOH: H_2O (1:1) 60 ml, 16 ore la aer și 30 min la 120°C	$CHCl_3$:AcOH (85:14)+2% cinconină		[22]
Auxiliari pentru materiale plastice — produse de condensare între anilină și formaldehidă	Silicagel G	C_6H_6:Me_2CO (8:2,5)	*p*-DABA 0,25% în HCl 0,25 N, cu EtOH abs.	[23]

Bibliografie

1. *Kreiner, J. G., Warner, W. C.* J. Chromatog., **44**, 1969, p. 315.
2. *Shuzewska, L.* Roczn. panst. Zakl. Hig., **20**, 1969, p. 177.
3. *Wang, R. T., Chou, S. S.* Roczn. panst. Zakl. Hig., **43**, 1969, p. 522.
4. *Dobies, R. S.* J. Chromatog., **40**, 1969, p. 110.
5. *Johan, F., Onaca, I., Weinberg, A.* Metodă C.S.S. de studiere a antioxidantului pentru cauciuc de tip „Flehtol" (lucrare nepublicată).
6. *Johan, F., Zaharia, M.* Metodă C.S.S. de studiere a antioxidantului de tip bisfenol împiedicat cu punte metilenică (lucrare nepublicată).
7. *Johan, F.* Metodă C.S.S. de studiere a antioxidantului de tip Santonox (lucrare nepublicată).

Scanned with OKEN Scanner

8. *Zaharia, M.* Metodă C.S.S. de studiere a antioxidantului de tip diarilamină secundară *p*-aminodifenilamină (lucrare nepublicată).
9. *Johan, F., Weinberg, M.* Metodă C.S.S. de studiere a acceleratorului pentru cauciuc de tip Santoflex (lucrare nepublicată).
10. *Johan, F., Onaca, I.* Metodă C.S.S. de studiere a preparării 2,2-bis-4-hidroxifenil-propan (lucrare nepublicată).
11. *Johan, F. Onaca, I.* Metodă C.S.S. de studiere a preparării antistaticelor de tip alchilfosfaţi (lucrare nepublicată).
12. *Dietl, A.* Allgem. Papierrundschau, 1962, p. 1262.
13. *Johan, F., Smorjevschi, M., Tatu, I.* Al 39-lea Congres Internaţional de Chimie Industrială, Vol. II, Bucureşti, 1970.
14. *Braun, D.* Chimia (Aarau), **19**, 1965, p. 77.
15. *Davies, J. H., Thaurairgham, St.* J. Chromatog., **35**, 1968, p. 43.
16. *Dobies, R. S., Thaurairgham, St.* J. Chromatog., **35**, 1968, p. 370.
17. *Durisinova, L., Bellins, D.* J. Chromatog., **32**, 1968, p. 584.
18. *Nagasawa, K., Yoshidome, H. I., Takeshita, R.* J. Chromatog., **43**, 1969, p. 473.
19. *Prahl, L., Engst, R., Jarmatz, E.* Nahrung, **12**, 1968, p. 845.
20. *Egorova, N. F., Sokolov, A. V.* Zh. Analit. Khim., **23**, 1968, p. 1098; Analyt. Abs., **18**, 1970, p. 1010; C.A., **69**, p. 113385x.
21. *Van Dessel, L., Clement, J.* Z. Lebensmitteluntersuch. u. Forsch, **139**, 1969, p. 146.
2. *Bojaj, I., Verna, K. K., Pratash, O., Parihar, D. B.* J. Chromatog., **46**, 1970, p. 261.
23. *Johan, F., Pîrvulescu, M., Teuşdea, M.* Metodă C.S.S. pentru studierea compuşilor rezultaţi la prepararea *p,p'*-diaminodifenilmetanului (lucrare nepublicată).

Bibliografie suplimentară

Davies, J. R., Kam, F. W. J. Inst. Rubber Ind., **2**, 1968, p. 86 (antioxidanţi şi acceleratori din cauciuc natural).
Schöder, E., Hagen, E. Plaste, Kautschuk, **15**, 1968, p. 625 (auxiliari din materiale plastice).
Helmstedt, N., Schroeder, E., Hagen, E. Plaste, Kautschuk, **15**, 1968, p. 405 (agenţi antistatici din materiale plastice).
Schoellner, R., Hellwig, J. Fette, Seifen, Anstr. Mittel, **70**, 1968, p. 770 (oligomeri, poliesteri).
Schorderet, M., Lapetanidis, I., Muriamanoff, A. Pharm. Acta. Helv., **41**, 1966, p. 680. (antioxidanţi din medicamente).
Broniatowski, A. Svenk. Papperstid, **70**, 1967, p. 234 (aditivi organici, materiale de tratare a suprafeţei hîrtiei).
Johan, F., Zaharia, M., Onaca, I., Biazzi, F. Rev. de Chimie (Buc.), **17**, 1966, p. 643 (antiblocanţi, fluidizant, pentru materiale plastice de tip oleamidă).
Dotreppe-Grisard, N., Dumoulin, J. Rev. Belge Matiéres Plast., **9**, 1968, p. 529 (plastifianţi din PVC).
Amos, R. Z. Anal. Chem., **236**, 1968, p. 350 (uleiuri, lubrifianţi de aviaţie).
Stefaniak, B. J. Chromatog., **44**, 1969, p. 403 (etoxichin).
Diemair, W., Pfeilsticker, K., Hölscher, J. Z. Anal. Chem., **234**, 1968, p. 418 (plastifianţi din materiale plastice).

Scanned with OKEN Scanner

Bun de tipar: 31.08.1971. Coli de tipar: 18. C.Z.: 543.544.

Tiparul executat sub com. nr. 357-71, la Întreprinderea poligrafică „Crișana" Oradea, str. Moscovei nr. 5.

Scanned with OKEN Scanner

Au apărut

O. Piringer, E. Tătaru

Cromatografia în strat subțire

390 pag. 13,50 lei

Tănase Ioana

Tehnica cromatografică

Amino-acizi, proteine, acizi nucleici

316 pag. 24 lei

Scanned with OKEN Scanner